

Tittel:

Endringer i energiomsetning i skjelettmuskel under isometrisk arbeid målt med intramuskulære termoelementer.

Forfatter(e):

Eirik Saugen

Prosjektansvarlig:

Nina K. Vøllestad, Dr. Scient

Prosjektmedarbeidere:

Eirik Saugen

Utgiver (seksjon):

Arbeidsfysiologisk seksjon

Dato:

27.2.91

Antall sider:

70

ISSN:

0801-7794

Serie: HD 1016/91 FOU

Sammendrag:

Forholdet mellom energiomsetning og tid ble undersøkt under repeterte statiske kontraksjoner, på 30% av maksimal kraft, gjentatt til utmattelse. Arbeidet ble utført med knestrekkerne, med forsøkspersonen sittende i en spesialbygget stol. Energiomsætningen ble målt med intramuskulære termoelementer. Metodeforsøk viste en god sammenheng mellom varmeproduksjonen i muskelen og temperaturstigning, når kraften var over 30% av maksimal kraft. Metodeforsøk viste også en lineær sammenheng mellom kraft og temperaturstigning. Tidligere forsøk viser en tilsvarende sammenheng mellom kraft og ATP-omsetning og det er derfor antatt at temperaturøkningen er et mål for hvor raskt ATP omsettes i muskelen.

Energiomsætning under kontraksjon økte gradvis utover i arbeidet. Forsøkspersonene hadde en gjennomsnittlig økning i energiomsetning på 65% i løpet av de første 40 minuttene av arbeidet. Disse målingene er i god overenstemmelse med økningen i oksygenopptak og tyder på at muskelen som helhet blir mindre effektiv utover i et slikt arbeid.

Stikkord:

Key words:

**energiomsætning
statisk arbeid
human skjelettmuskel
varmeproduksjon**

**metabolic rate
isometric contractions
human skeletal muscle
heat production**

FORORD

Arbeidet er utført ved Fysiologisk Seksjon, Statens Arbeidsmiljøinstitutt. Dr. Scient. Nina K. Vøllestad har vært min veileder og førsteamanuensis Kjell Fugelli har vært hovedfagsansvarlig.

Jeg vil takke Nina Vøllestad for et godt og inspirerende samarbeid og Kjell Fuggeli og professor Olav Sand for konstruktiv kritikk i forbindelse med skrivingen. Jeg vil også takke alle de ved STAMI som har bidratt til gjennomføring av prosjektet og som har gjort at jeg har hatt et trivelig arbeidsmiljø.

Legene Bo Veiersted (STAMI) og Jens Ivar Brox (Ullevål sykehus) har hjulpet til med planleggingen og gjennomføringen av de medisinske delene av forsøkene. Jeg vil gjerne takke dem for gode råd og den velvilje de har vist, ikke minst under forsøk langt utenfor arbeidstid.

En stor takk går også til Elisabeth, min samboer, for den hjelp og tålmodighet hun har vist.

Innholdsfortegnelse

1. INNLEDNING.....	3
1.1 Muskelkontraksjon og metabolisme.....	4
1.2 Langvarig isometrisk arbeid.....	6
1.3 Varmeproduksjon som mål for metabolisme.....	9
1.4 Temperaturmålinger <i>in vitro</i> og <i>in vivo</i>	11
1.5 Problemstilling.....	13
2. MATERIALER OG METODE.....	15
2.1 Forsøkspersonene.....	15
2.2 Arbeidsprotokollene.....	15
2.3 Måleoppsett.....	18
2.3.1 Konstruksjon av termoelementene.....	18
2.3.2 Signalet og forsterkerutstyret.....	19
2.3.3 Innlegging og lokalisering av termoelementene.....	22
2.4 Andre måleparametre.....	23
2.5 Statistikk.....	24
3. RESULTATER.....	25
3.1 Metodeundersøkelser.....	25
3.2 Langvarig repetert isometrisk arbeid.....	33
4. DISKUSJON.....	37
4.1 Signalet.....	37
4.2 Termodynamiske forutsetninger.....	40
4.2.1 Forholdet mellom dT/dt og kraft.....	40
4.2.2 Et termodynamisk lukket system?.....	42

Innholdsfortegnelse

4.3 Langvarig repetert submaksimalt isometrisk arbeid.....	44
4.3.1 Endringer i "mekanisk effektivitet".....	44
4.3.2 Forholdet mellom ATP-forbruk og kraft.....	45
4.3.3 Forholdet mellom ATP-resyntese og varmeproduksjon	48
4.3.4 Energiomsetning og muskeltretthet.....	50
4.4 Oppsummering og konklusjoner.....	52
5. LITTERATUR.....	54
APPENDIX.....	62
FORKORTELSER.....	70

Innledning

1. INNLEDNING

Muskelcellens evne til å omsette organiske forbindelser til mekanisk kraft, og derved bevegelse, har fascinert biologer i flere hundre år. Tverrstripet muskel er derfor også et av de best undersøkte organer hos dyr. På tross av alt arbeidet som er nedlagt i disse undersøkelsene, er mye av vår kunnskap om fysiologiske mekanismer og energiomsetning i muskel fortsatt bygget på teoretiske antakelser og hypoteser.

Behovet for mer nøyaktig kunnskap om muskelfunksjon er økende. Den kanskje viktigste årsaken til dette er økt hyppighet av sykdom og plager knyttet til muskel-/skjelettsystemet. Disse plagene faller ofte sammen med kroniske spenningstilstander i muskelen. Studier der muskelen arbeider isometrisk på lav kraft over en lengre tidsperiode, vil simulere en slik langvarig spenningssituasjon. Et slikt arbeid vil også føre til at muskelen gradvis trettes ut. En mulig kobling mellom tretthet og en endring i metabolsk aktivitet har vært foreslått (Vøllestad og Sejersted, 1988; Vøllestad *et al.*, 1990). Direkte målinger som underbygger denne hypotesen har imidlertid ikke vært gjort. Mer kunnskap om energiomsetningen under langvarig isometrisk arbeid, vil kunne bedre forståelsen av en eventuell sammenheng mellom muskeltretthet og metabolske endringer.

I dette studiet har jeg undersøkt om det skjer endringer i muskelens energiomsetning under langvarig repetert submaksimalt isometrisk arbeid. Energiomsetning i muskelen avgir varme og dersom den metabolske aktiviteten endres, ville den kunne reflekteres i en kvantifiserbar endring i varmeproduksjonen. Ved hjelp av termoelementer og måleapparat med god spenningssensitivitet, vil denne endringen kunne registreres. Måling av varmeproduksjon i enkeltfibre fra froskemuskel har vært en av de viktigste metodene for å få kjennskap til muskelens energiregnskap. Jeg har derfor tatt i bruk kjent teori på dette feltet

Innledning

(Hill, 1965; Woledge, *et al.*, 1985) og undersøkt om den lar seg anvende på human muskel *in vivo* under langvarig repetert arbeid.

1.1. Muskelkontraksjon og metabolisme

Vi kan dele energiomsetningen i muskel inn i to grupper. Den ene gruppen består av prosesser knyttet direkte til det kontraktile apparatet og de ionebevegelser som må til for at kontraksjon skal finne sted. Den andre gruppen består av reaksjoner som bidrar til opprettholdelse av en stabil adenosin-trifosfat (ATP) konsentrasjon i cellen.

Muskelkontraksjon forutsetter raske ioneflukser både over cellemembranen og over membranen til det sarkoplasmatiske retikulum. Drivkraften for ioneflukse-
ne er elektrokjemiske gradienter som opprettholdes ved omsetning av kjemisk energi. I tillegg krever interaksjonen mellom aktin og myosin energitilførsel for at arbeid skal kunne utføres. ATP er den sentrale aktør i overføring av energi i en muskelcelle og de tre mest energikrevende prosessene forbruker alle ATP under kontraksjon (fraksjon av totalforbruket i parentes). Disse tre er; 1) Actomyosin ATPase (65-80%), 2) Ca^{++} -pumpene i det sarkoplasmatiske retikulum(SR) (20-35%), 3) Na^+/K^+ -pumper i sarkolemma (10%) (se: Homsher, 1987).

Betydningen av konstant intracellulær konsentrasjon av ATP stiller store krav til en rask og fleksibel resyntese av dette molekylet. Cellen har da også flere alternativer for ATP-resyntese (tabell 1.1). Det viktigste skille mellom disse alternativene går på hvorvidt oksygen (O_2) brukes direkte i resyntesen eller om muskelcellen produserer ATP ved å bygge opp en O_2 -gjeld i form av øket intracellulær laktat (La^-) konsentrasjon og tømming av cellens kreatinfosfat (PCr) reserver. Om O_2 -gjeld oppstår eller ikke, avhenger igjen av to ting. Metabolismen i vevet kan øke til nivåer der kravet til O_2 tilførsel ligger over det blodet kan tilføre, selv om både hjertets pumpekapasitet og den lokale sirkulasjonen i

Innledning

muskel også øker med arbeidets intensitet. Oksygen kan imidlertid også bli mangelvare pga. redusert tilførsel av blod, for eksempel ved okklusjon.

Tabell 1.1 Viktige prosesser som bidrar til ATP-resyntese under kontraksjon. Kolonne 1 viser endringer i entalpi (ΔH ; kJ) for enkeltreaksjonene i kilojoule. Kolonne 2 viser endring i entalpi ved forbruk av 1 mol ATP for de ulike resyntese alternativene. (Homsher, 1987).

	(1)	(2)
<i>Kortsiktige (anaerobe) prosesser</i>	Entalpiendring (ΔH)	ΔH /mol ATP
1. PCr + ADP \longrightarrow Cr + P _i	+15	
ATP \longrightarrow ADP + P _i	-47	
PCr \longrightarrow Cr + P _i	-32	-32
2. Glykogen + 3ADP + 3P _i \longrightarrow 3ATP + 2La	-47	
3ATP \longrightarrow 3ADP + 3P _i	-141	
Glykogen \longrightarrow 2La	-188	-63
<i>Langsiktige (aerobe) prosesser</i>		
3. Glykogen + 6O ₂ + 39ADP + 39P _i \longrightarrow		
6CO ₂ + 6H ₂ O + 39ATP	-1029	
39ATP \longrightarrow 39ADP + 39P _i	-1833	
Glykogen \longrightarrow 6CO ₂ + 6H ₂ O	-2862	-73
4. Fri fettsyrer + ADP + P _i \longrightarrow		
H ₂ O + CO ₂ + ATP	???	??

Innledning

Kontraksjon av muskel fører til en økning i muskeltrykk og derved en mulighet for avsnøring av små blodkar (Sejersted *et al.*, 1984). I tillegg vil bevegelser inne i muskelen kunne føre til en mekanisk avsnøring av små arterioler (Barcroft og Millen, 1939). Under dynamisk arbeid vil muskelcellen som regel være kontrahert i bare en fraksjon av den totale arbeidstiden, og muskelcellene vil antakelig hele tiden ha god tilgang på O_2 fra blodet. Isometriske kontraksjoner fører derimot til en vedvarende trykkøkning i muskelen. Allerede på svært lave kraftnivåer kan trykket bli så høyt at vener og kapillærer klemmes sammen (Barcroft og Millen, 1939; Sejersted *et al.*, 1984; Wesche, 1986). Følgen av dette er at muskelcellen, under isometrisk arbeid, i stor grad er nødt til å resyntetisere ATP via ikke-oksydative veier.

I de fleste celletyper vil metabolismen stoppe opp dersom tilførselen av O_2 blir for liten. Følgene vil som regel være sterkt nedsatt cellefunksjon med påfølgende vevsdød dersom ikke O_2 -tilførselen gjenoprettes. Sett i dette perspektiv har muskelcellen spesielle egenskaper. For det første kan den øke sin energiomsetningshastighet med flere tusen prosent fra hvilesituasjonen til hardt arbeid. Under disse forholdene kan den arbeide i opptil flere minutter uten å få tilført O_2 . Dette skyldes O_2 -reserver knyttet til myoglobin, høy konsentrasjon av enzymer for ikke-oksydativ nedbryting av glykogen og store intracellulære glykogen- og kreatinfosfatreserver.

1.2 Langvarig isometrisk arbeid

Muskeltretthet kan defineres som et gradvis fall i muskelstyrke utover i et arbeid, målt ved maksimal frivillig kraft (MFK), eller ved elektrisk stimulering av muskelen. Ett hvert submaksimalt isometrisk arbeid vil føre til muskeltretthet, enten det består av en langvarig kontraksjon eller av korte kontraksjoner med korte pauser imellom (Edwards, 1981; Vøllestad *et al.*, 1988). Årsakene til denne tretthetsutviklingen er for en stor del lokalisert i muskelcellen eller i overføringen mellom motorneuron og muskelcelle (Bigland-Ritchie

Innledning

et al., 1986). Nyere forsøk (Vøllestad *et al.*, 1988; Vøllestad *et al.*, 1990) har påvist et lineært fall i MFK med tid under et repetert submaksimalt isometrisk arbeid. Parallelt med endringen i muskelstyrke er det målt en økning i O₂-opptak (Vøllestad *et al.*, 1990). Vøllestad og medarbeidere (1990) har derfor foreslått en mulig årsakssammenheng mellom muskeltretthet og energiforbuk.

Energiomsetningen under en langvarig isometrisk kontraksjon har vært studert av mange (Edwards *et al.*, 1975; Hultman og Spriet, 1986; Chasiotis *et al.*, 1987; Spriet *et al.*, 1988). Felles for disse studiene er at muskelen har blitt tømt for O₂ før start av kontraksjon og at all ATP-resyntese derfor har måttet skje ved anaerob nedbrytning av kreatinfosfat og glykogen. Sjöholm og medarbeidere (1983) har vist at 70% av ATP-resyntesen skjer som følge av nedbryting av kreatinfosfat i de første 10 - 15 sekundene av kontraksjonen. Etter 30 sekunder av kontraksjonen var cellens kreatinfosfatreserver nesten tomme og ATP-resyntesen ble opprettholdt ved glykolytisk aktivitet. Det samme mønsteret har vist seg å være gjeldende for repeterte isometriske kontraksjoner, der muskelen ikke får tilførsel av O₂ i hvilefasen (Chasiotis *et al.*, 1987).

Energiomsetningen og substratforbruket under en kortvarig isometrisk kontraksjon der muskelens O₂ reserver ved starten av kontraksjon er intakte, er ikke beskrevet i litteraturen. Det er slike kontraksjoner jeg har studert i denne oppgaven. Hvor raskt O₂-lagrene i muskelene brukes opp avhenger blandt annet av kontraksjonens styrke og varighet. En kan derfor tenke seg en overgang fra aerob til anaerob resyntese av ATP utover i en kontraksjon (tabell 1.1). Under det repeterte arbeidet er kontraksjonene imidlertid bare av 6 sekunders varighet og kraften på bare 30% av MFK. ATP-forbruket under disse kontraksjonene vil kunne dekkes av det oksygenet som lagres i muskelen (beregninger i kapittel 4. Diskusjon, side: 44). Etersom hver kontraksjon etterfølges av en hvileperiode med god perfusjon av muskelen, vil vi derfor kunne betrakte det repeterte arbeidet som tilnærmet aerobt. ATP resyntetiseres da som følge av nedbrytning av glykogen og kreatinfosfat og kreatinet fosforyleres igjen når glykogen

Innledning

nedbrytes i mitokondriene. Årsaken til at kreatinfosfat sykliseres er at molekylet har lav vekt. Transporten i cytosol av høyenergetiske fosfatgrupper kan derfor skje raskere enn ved diffusjon av ATP, som er et stort molekyl.

Langvarige isometriske kontraksjoner fører til et fall i muskelstyrke (se: Edwards, 1981). Dette viser seg å være tilfelle både ved elektrisk stimulering av muskelen og ved frivillige kontraksjoner. Muskel trettheten ledsages av en endring i energiomsetning der forholdet mellom energiforbruk og kraft gradvis reduseres til mellom 50% og 25% av utgangsverdien (Edwards *et al.*, 1975a; Spriet *et al.*, 1987; egne pilotforsøk). Fordi muskelen ikke utfører noe arbeid på systemet under isometrisk kontraksjon, blir muskelens effektivitet vanskelig å måle. Forholdet mellom ATP-omsetning og kraft kan imidlertid defineres som "mekanisk effektivitet". Tretthet under langvarige isometriske kontraksjoner ser da ut til å være ledsaget av en 2-4 gangers økning av den "mekaniske effektiviteten" til muskelen.

Dersom disse fundamentale endringene i energiomsetning er knyttet til muskel tretthet, ville vi også forvente å finne den samme tendensen under annet langvarig isometrisk arbeid, som f.eks. en protokoll der arbeidet består av repeterte submaksimale isometriske kontraksjoner med korte hvileperioder imellom kontraksjonene. En person som gjør repeterte 6 sekunders kontraksjoner på 30% av maksimal frivillig kraft (MFK) etterfulgt av 4 sekunders hvile, vil fra arbeidets start til utmattelse fordoble O₂-opptaket i det arbeidende benet. (Vøllestad *et al.*, 1990). Disse observasjonene kan tyde på en markert økning i forholdet mellom energiomsetningshastighet og arbeidsintensitet og dermed en reduksjon i "mekanisk effektivitet" til ca. halvparten av hvileverdi.

Begge protokollene nevnt ovenfor innebærer langvarig isometrisk arbeid, og en markert utvikling av muskel tretthet. Muskelens respons på dette, i form av energiomsetning, ser ut til å være avhengig av tilgangen på oksygen. Funnene til Vøllestad og medarbeidere gir imidlertid ikke holdepunkter for å si noe om ener-

Innledning

giomsetningen under kontraksjonsfasen. Oksygenopptaket er beregnet for hele benet og for hele arbeidet inkludert hvileperiodene. Økningen i O₂-opptak behøver derfor ikke avspeile endringer i muskelens energiomsetning i kontraksjonsfasen, men kan istedet være knyttet til restitusjonsprosesser i hvileperiodene. Direkte målinger av metabolisme i kontraksjonsfasen under repeterte aerobe kontraksjoner vil forhåpentligvis føre til en bedre forståelse av energiomsetningen under denne typen arbeid.

1.3 Varmeproduksjon som mål for metabolisme

Energiomsetningen i en muskelcelle går med til cellens kraftutvikling (gjennom proteiners konformitetsendringer), opprettholdelse av elektrokjemiske gradienter (for ulike molekyler over plasmalemma og intracellulær membraner) og dannelse av nye substrater. De aller fleste kjemiske prosesser i cellen vil avgi varme. Prosesser som gir store bidrag til varmeproduksjon under kontraksjon er gitt i tabell 1.1. Dersom vi kjenner til det kvantitative forholdet mellom omsetningshastighetene til disse prosessene og omfanget av arbeidet cellen utfører på omgivelsene, sier termodynamikkens 1.lov (likn. (1)) at vi kan bruke varmeproduksjonen for å beregne metabolsk hastighet.

Dannelsen av nye substrater fører til en endring i indre energi i muskelcellen. Ifølge termodynamikkens 1. lov vil dette kunne føre til både en produksjon av varme i muskelen og at muskecellen utfører et arbeid på sine omgivelser.

$$\sum \epsilon_i \times \Delta H_i = Q + W \quad (1)$$

der ϵ_i er omfanget av reaksjon (i), ΔH_i (se tabell 1.1) er standard entalpien for denne reaksjonen, Q er varmeproduksjon og W er arbeidet muskelen utfører på sine omgivelser. I en isometrisk kontraksjon skjer det ingen ytre bevegelse og det eksterne arbeidet er derfor lik null fordi:

Innledning

$$W = F \times S \quad (2)$$

I en isometrisk kontraksjon er S , som er veien kraften (F) virker over, lik null. En endring i varmeproduksjonen vil derfor reflektere en like stor endring i indre energi i muskelcellen og derfor kvantitativt avspeile endringer i muskelens energiomsetningshastighet.

Varmeproduksjonen kan måles dersom vi kjenner tilførsel og avgang av varme i systemet (muskelen). Denne formen for varmetransport kan skje ved konduksjon til omkringliggende vev eller ved at varme transporteres med blodet. Den absolutte temperaturen i muskelen stiger såvidt lite under arbeid at det ikke er grunn til å tro at konduksjon gjennom hud øker i forhold til hvilesituasjonen (Saltin *et al.*, 1968). Som nevnt vil trykket i muskelen øke under isometrisk kontraksjon og det er grunn til å tro at den lokale sirkulasjonen, i m. vastus lateralis hos menneske, er fullstendig avstengt ved en kraft på ca 20% av MFK (Sejersted *et al.*, 1984; Wesche, 1986). Jeg har brukt 40% av MFK som referansenivå for å være sikker på at okklusjonen er fullstendig.

Disse funnene gjør det mulig å se på en isometrisk kontraherende m. vastus lateralis som et lukket termodynamisk system. En konstant varmeproduksjon vil da gi en lineær økning i temperaturen med tiden. Temperaturøkningen over tid (dT/dt) vil være avhengig av vevets spesifikke varmekapasitet (C_m) og omfanget av varmeproduksjonen etter forholdet:

$$dT/dt = (\Sigma \epsilon_i \times \Delta H_i) / (C_m \times dt) \quad (3)$$

Vi kan imidlertid bruke endringer i varmeproduksjonen som mål for endringer i metabolsk rate over tid også dersom vi ikke kjenner de kjemiske forandringene i detalj. Forutsetningen er at forholdet mellom ratene til de viktigste varmeproduserende prosessene ikke endres.

Innledning

Hydrolyse av ATP, med en medfølgende nedbryting av kreatinfosfat, er de prosesser som i hovedsak bidrar til varmeproduksjonen i en kortvarig isometrisk tetanus i human muskel (Edwards *et al.*, 1975a; Sjöholm *et al.*, 1983). I overenstemmelse med disse forhold øker også ATPase aktiviteten lineært med kraftutviklingen i muskelen (Edwards *et al.*, 1975a; Kushmerick, 1983). Vi kan derfor anta at varmeproduksjonen i muskel gir et godt bilde av den metabolske hastigheten under kontraksjon.

Tidsutviklingen av varmeproduksjonen er undersøkt i detalj i froskemuskel (ved 0 °C) og kan grovt deles inn i to faser (se: Hill, 1965; Woledge *et al.*, 1985). Varmeproduksjonen er høyere i de første 4 - 5 sekundene enn under den resterende delen av en tetanus. Den høye varmeproduksjonen innledningsvis kalles aktiverings- og forkortningsvarme og skyldes eksitasjon-kontraksjonskoblingen og glidningen av de kontraktile filamentene aktin og myosin. Hvor lang tid det tar før varmeproduksjonen stabiliserer seg i human muskel (ved 37 °C) er ikke kjent, men det er rimelig å anta at tidsforløpet er adskillig raskere enn i froskemuskel ved 0 °C. Varmeproduksjonen i den stabile fasen kalles opprettholdelses varme og er assosiert med hydrolyse av ATP under en stabil isometrisk kontraksjon.

1.4 Temperaturmålinger *in vitro* og *in vivo*

De fleste målinger av temperaturendringer i muskel har vært gjort på froskemuskel *in vitro* (se: Homsher, 1983; Woledge *et al.*, 1985). Små preparater, lav temperatur (0 °C) og bruk av mange termoelementer koblet i serie, har gitt god oppløsning med hensyn både på hvor mye varme som dannes og på tidsutviklingen i varmeproduksjonen.

Hvorvidt funnene fra frosk lar seg ekstrapolere til pattedyrmuskel er det uenighet om. Noen studier har vært gjort *in vivo* på m. soleus og m. ekstensor digitorum longus hos mus (Edwards *et al.*, 1975b; Crow og Kushmerick, 1982).

Innledning

Disse studiene gir holdepunkter for at prinsippene er de samme, selv om det er tildels store kvantitative forskjeller i tidsutvikling og total energiomsetning.

Studier av varmeproduksjonen i human muskel finnes det forholdsvis få av. Innlegging av et termoelement gjennom huden gir langt større måleusikkerhet enn ved bruk av *in vitro* preparater. Usikkerheten vil i hovedsak være forårsaket av vanskelighetene med å kontrollere termoelementets beliggenhet, bevegelse under og mellom kontraksjoner og ikke minst i hvilken grad det danner seg ødemer rundt termoelementet. Detaljerte undersøkelser av temperaturstigningshastigheten i de første sekundene av en kontraksjon lar seg vanskelig gjennomføre og målingene vil nødvendigvis reflektere et gjennomsnitt av varmeproduksjonen fra svært mange muskelfibre.

De arbeidene som har vært gjort, har i første rekke undersøkt sammenhengen mellom temperaturstigningshastigheten og isometrisk kraftutvikling i muskelen (Akre og Aukland, 1970; Edwards *et al.*, 1972; Edwards *et al.*, 1975a; Edwards, 1976; Bolstad og Ermland, 1978). Enkelte har også studert varmeproduksjonen under langvarige isometriske kontraksjoner holdt til utmattelse (Edwards *et al.*, 1975a; Wiles og Edwards, 1982). I de fleste av disse arbeidene har målingene vært foretatt i m. vastus lateralis, men også m. soleus, m. biceps og m. adductor pollicis har vært brukt. Responsene i de ulike musklene er kvalitativt like, og kvantitative forskjeller har vært forklart med ulik fibertypesammensetning. Forskerne har benyttet termoelementer i sine undersøkelser, med unntak av Edwards og medarbeidere (1974), som utviklet en termistor til formålet. Bruk av termistor ga ikke bedre måleoppløsning enn tidligere forsøk med termoelementer.

Tidsutviklingen til temperaturstigningshastigheten (dT/dt) har ikke vært målt i muskel *in vivo* hos mennesker under langvarig repetert submaksimalt arbeid. Ettersom metoden teoretisk sett gir et svært direkte bilde av energiomset-

Innledning

ningen i muskel, er det interessant å anvende den for å avdekke temporale endringer.

1.5 Problemstillingen

Vøllestad og medarbeidere (1990) har funnet en fordobling av O_2 -opptaket under repeterte isometriske kontraksjoner, noe som sterkt antyder muligheten for en redusert "mekanisk effektivitet" over tid. Mitokondriell dysfunksjon med påfølgende løskobling mellom oksydativ fosforylering og ATP resyntese har vært foreslått som en mulig årsak til økningen i O_2 -opptak. Den samme arbeidsprotokollen fører til en gradvis uttretting av muskelen. Begge disse parametrene følger en lineær tidsutvikling og en hypotese som knytter sammen muskeltretthet og endringer i muskelens effektivitet er derfor tiltalende.

Observasjonene til Vøllestad og medarbeidere (1988; 1990) står i skarp kontrast til observasjoner av endringer i energiomsetning under langvarige isometriske kontraksjoner. Flere arbeider har, ved et slikt arbeid, påvist en gradvis økning i metabolsk effektivitet parallelt med tretthetsutviklingen.

Ingen av de parametre som er undersøkt av Vøllestad og medarbeidere (1988; 1990) er imidlertid målt direkte i muskelen under kontraksjon. Enten prøver er tatt ved muskelbiopsier, blodprøver eller målinger av O_2 opptak, er det et temporalt og spatialt sprang fra arbeidende muskel til målingen foretas. En metode for måling av svært små temperaturforandringer i muskel over kort tid vil kunne gi mer direkte informasjon om endringer i energiomsetningshastigheten under isometrisk arbeid.

På basis av dette, har denne oppgaven følgende problemstilling:

1. Er temperaturstigning i muskel et godt mål for energiomsetning under isometriske kontraksjoner på 40 % av maksimal frivillig kraft?

Innledning

Her stilles følgende delspørsmål:

*** Hvilken sammenheng er det mellom temperaturstigningshastigheten og kraftnivå?**

*** Er det forskjeller i temperaturstigningshastighet mellom kontraksjoner gjort henholdsvis med og uten ekstern avklemming av sirkulasjon ?**

2. Følges fallet i maksimal frivillig kraft og økningen i O₂-opptak, under langvarig repetert isometrisk arbeid, av en økning i energiomsetningsraten under kontraksjon?

2. MATERIALER OG METODE

2.1 Forsøkspersonene

Forsøkspersonene var 5 menn og 2 kvinner, alder 24 - 28 år. To av forsøkspersonene var utholdenhetstrent og de øvrige var mosjonister. Protokoller, metoder og prosedyrer var på forhånd godkjent av den regionale komite for medisinsk forskningsetikk, Rådet for Medisinsk Forskning. Alle forsøkspersonene hadde på forhånd fått skriftlig informasjon om forsøkene (Appendix A) og hadde gitt sitt skriftlige tilsagn på at de ønsket å delta. De var informert om at de kunne trekke seg fra forsøkene når de måtte ønske det. Forsøkspersonene skulle ikke delta i hard trening eller utmattelsesarbeide forsøksdagen eller dagen før forsøket.

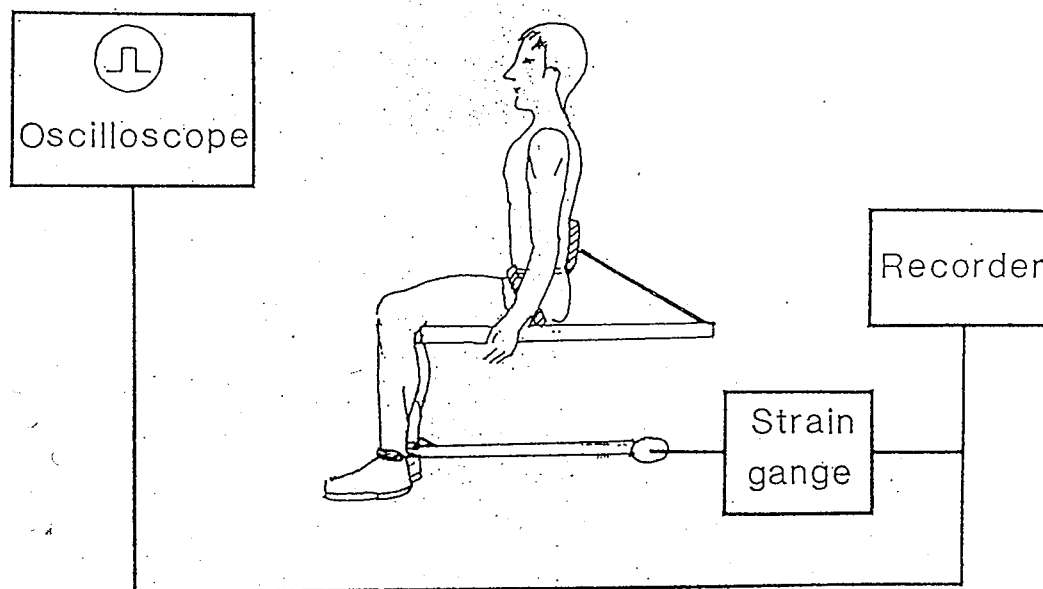
2.2 Arbeidsprotokollene

Forsøkspersonene arbeidet sittende i en spesialbygget stol med tilnærmet 90° vinkel i kneleddet. Arbeidet bestod i isometriske kontraksjoner med m. quadriceps femoris. For å begrense aktiveringen av hoftededdsflexorene, var forsøkspersonene spent fast med et belte over hoftene og satt med overkroppen tilbaketil i en vinkel på ca 60°. Målingen av kraft ble gjort slik at de to bena arbeidet parallelt via en trinse og var nødt til å utvikle samme kraft for å forhindre bevegelse (figur 2.1).

Forsøkene startet med innlegging av 5 termoelementer. To 15 sekunders kontraksjoner på ca. 50% av maksimal frivillig kontraksjon (MFK), ble utført for å teste om responsen var tilnærmet lineær. Ny innlegging ble foretatt når antall responderende termoelementer var mindre enn antall mulige registreringskanaler. Forsøkspersonen utførte så tre 5 sekunders MFK med 5 minutters

Materialer og metoder

mellomrom. MFK ble bestemt til å være den høyeste kraften holdt over en 2 sekunders periode i en av disse kontraksjonene.



Figur 2.1 Enkel skisse over arbeidsmodell for isometriske kontraksjoner med m. quadriceps. Bena er koblet sammen via en trinse og må derfor utvikle lik kraft for å forhindre bevegelse.

Etter forsøkene ble termoelementene trukket ut og benet kontrollert med hensyn på evt. hematom og ytre blødninger. Forsøkspersonene ble bedt om å kontakte lege ved instituttet, uansett tid på døgnet, dersom komplikasjoner skulle oppstå etter forsøket. Forsøkene førte imidlertid ikke til andre plager enn svake og forbigående knesmerter og øm muskulatur.

En serie forsøk ble gjort for å undersøke variasjonen i temperaturstignings-hastigheten (dT/dt); mellom forsøkspersonene, mellom ulike lokaliteter i muskelen og mellom flere like kontraksjoner utført etter hverandre. Arbeidet i disse forsøkene bestod av 15 sekunders kontraksjoner på 40% av MFK med ca 4

Materialer og metoder

minutters hvile mellom hver kontraksjon over en tid på 40 minutter. Resultatene fra denne forsøksserien ble også brukt som kontrollverdier til resultatene fra det langvarige repeterte arbeidet (se nedenfor). Absolutt muskeltemperatur ble registrert på alle lokaliteter med intervaller på ca. 10 minutter.

Forholdet mellom dT/dt og kraft ble undersøkt ved at forsøkspersonene utførte kontraksjoner på mellom 10 og 90 % av MFK i tilfeldig rekkefølge. Varigheten av kontraksjonene var 15 sekunder, eller inntil kraften ikke kunne opprettholdes for de høyeste kraftnivåene. Det var minimum 3 minutter pause mellom to kontraksjoner.

For å undersøke om sirkulasjonen i muskelen var avstengt under kontraksjon, ble et trykk på 300 mm Hg applisert med en oppblåsbar mansjett tilknyttet et manometer. Mansjetten ble lagt proksimalt for termoelementet og blåst opp umiddelbart før kontraksjon for å forhindre uttømming av O_2 -reservene i muskelen før start av kontraksjon. Forsøkspersonene gjorde 15 sekunders kontraksjoner på hhv. 10, 20, 30 og 40% av MFK alternerende med og uten okklusjon.

Det ble gjort et forsøk for å undersøke dT/dt under en langvarig submaksimal kontraksjon. Forsøkspersonen opprettholdt en stabil kraft ved frivillig kontraksjon så lenge som mulig. dT/dt ble også målt under elektrisk stimulering av muskelen umiddelbart før og etter den langvarige kontraksjonen. Stimuleringen ble gjort med en Pulsar 6bp stimulator (FHC Brunswick, ME, USA) og egenproduserte stimuleringselektroder på 10 X 15 cm. Stimuleringsfrekvensen ble satt til 25 Hz, impulsvarigheten til 0.15 ms og spenningen over elektrodene regulert til kraften var ca. 40% av MFK.

Energiomsetningen under langvarig repetert isometrisk arbeid ble undersøkt på følgende måte. Forsøkspersonene arbeidet på 30% av MFK. Bortsett fra måling av MFK og dT/dt bestod arbeidet i en kontinuerlig gjentakelse av en arbeidssy-

Materialer og metoder

klus, bestående av 6 sekunders kontraksjon etterfulgt av 4 sekunders hvile, gjentatt til utmattelse. MFK ble målt hvert 10 minutt ved at forsøkspersonen gjorde en maksimal frivillig kontraksjon på 4-5 sekunder og deretter hvilte til neste 30% syklus startet. Måling av dT/dt ble gjort under 15 sekunders kontraksjoner på 40% av MFK (utgangsverdi). Disse ble gjort ca. hvert 4. minutt etterfulgt av 15 sekunders hvile. I disse forsøkene foretok vi også med jevne intervaller måling av hjerterefrekvens, O_2 -opptak over lungene, rektaltemperatur og absolutt muskeltemperatur.

2.3 Måleoppsett

2.3.1 Konstruksjon av termoelementene

Termoelementene ble forsøkt konstruert av flere typer termoelementledning. Tråden måtte ha høy sensitivitet i det aktuelle måleområdet. I tillegg krevet innleggingsteknikken at tråden både var forholdsvis stiv og hadde liten diameter. En kopper-konstantan ledning (TT-36-T, Omega Inc, USA) med en diameter på 36 gauge viste seg å være best egnet utfra disse kravene og er derfor brukt i alle forsøkene. Hver av lederne er teflonisolert og ligger i en felles teflonstrømpe. For å forhindre at isolasjonen krympet under autoklaving, forvarmet jeg tråden i varmeskap ved 100 °C i en time før termoelementet ble loddet sammen.

Termoelementene ble konstruert som en én meter lang sløyfe med kobbertråd i hver ende og konstantantråd i midten (figur 2.2). Kobber og konstantan trådene ble tvunnet godt sammen og loddet. De loddede endene ble så avkortet, slik at 2-3 tvingninger gjenstod. For å kunne bestemme hvor dypt termoelementet lå i muskelen, ble det merket 8 cm fra enden.

Materialer og metoder

2.3.2 Signalet og forsterkerutstyret

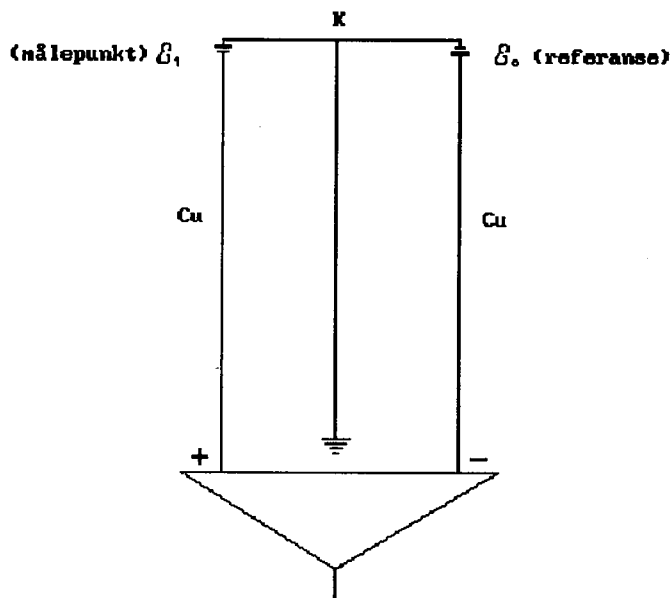
Et termoelement av kopper og konstantan gir en DC spenning (EMF) på 41.5 $\mu\text{V}/^\circ\text{C}$ (Gordon Temperature Measurement). Spenningen over termoelementet ved kroppstemperatur vil da være ca. 1,5 mV. Temperaturendringen under isometrisk kontraksjon vil være fra bortimot null og opp mot 0.025 $^\circ\text{C}/\text{s}$ avhengig av kraftutviklingen (Edwards et.al., 1975a; Bolstad & Ersland, 1978). De tilsvarende spenningsendringene vil være i størrelsesorden 0 til 1 $\mu\text{V}/\text{s}$. Måling av så små spenningsforandringer stiller spesielle krav til forsterkerutstyret, både når det gjelder signal-/støyforhold og stabilitet over tid. Ønsket om å kunne måle både absolutte temperaturendringer og endringer i dT/dt under kontraksjon gjorde at forsterkerutstyret raskt måtte kunne tilpasses ulike forsterkningsnivåer.

Spenningen som genereres i de to loddepunktene er motsatt rettet og differansen mellom dem kan måles med en differensialforsterker (figur 2.2). Det ene punktet ble brukt som referanse og plassert i et isolert isbad. Oppsettet ble kalibrert i et vannbad (stabil til ± 0.025 $^\circ\text{C}$) mot et sertifisert termometer med en nøyaktighet på ± 0.1 $^\circ\text{C}$ før hvert forsøk. Alle kalibreringer er foretatt på 2000 X forsterking over et område fra 0 $^\circ\text{C}$ til 40 $^\circ\text{C}$. Beregning av dT/dt er så gjort utfra forutsetningen om lineariteten ble beholdt ved økt forsterkning. Fordi koblingen mellom termoelementet og forsterker er følsom for temperaturendringer, bygget jeg disse inn i et isoporisolert kabinett.

En skjematisk framstilling av måleoppsettet er gitt i figur 2.3. Signalet fra termoelementet ble forsterket 2000 ganger ved absolutte temperaturmålinger og 100 000 ganger ved måling av temperaturstigning under kontraksjon. Til dette ble det brukt to typer forsterkere: 1. Gould High Gain DC forsterker 13-G4614-20 (Gould Inc., OH, USA), 2. Gould Univeralforsterker 13-G4615-58 i kobletserie med en instrumentforsterker (LM363, National Semiconductor Corp.

Materialer og metoder

USA) som forsterket signalet 100 ganger. Signalet ble presentert på en flerkanals elektrostatisk skriver (Gould ES1000), med variabel utskriftshastighet.

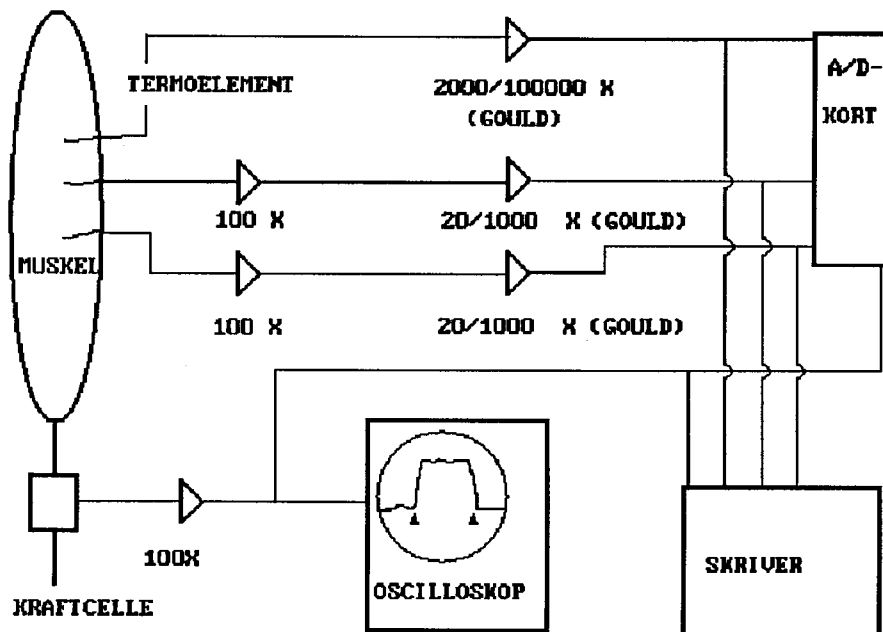


Figur 2.2: Skjematisk figur av et termoelement. Elementet fungerer som to motsatt rettede spenningsgenererende celler og er koblet opp mot en differensialforsterker. Cu - kobber, K - konstantan, E_1 - spenning fra målepunktet, E_2 - spenning fra referansepunktet.

Kraften ble presentert på samme skriver. Kraftsignalet ble generert av en transducer (U2AC2, Hottinger Baldwin Messtechnik, V.Tyskland) og forsterket 100 ganger med en operasjonsforsterker (AC3, Hottinger Baldwin Messtechnik). Forsøkspersonen kunne se kraftnivået på et diodedisplay på skriveren. Under de langvarige forsøkene fikk forsøkspersonen informasjon om kraftnivå og tidsforløp på et diodedisplay på et oscilloskop (figur 3.1).

Materialer og metoder

Både kraft og temperatursignalet ble direkte lest inn på en harddisk via et 12 bit A/D kort (Metrabyte Dash 16, Metrabyte Corporation, MA, USA). Innsamling og lagring på fil, ble gjort av et spesialprogram (Asystant+, Asyst Software Technologies, NY, USA). Samplingsfrekvensen var 50 Hz for alle kanaler.



Figur 2.3: Oppsett for måling av kraft og temperatur i muskel *in vivo*. Trekantene symboliserer forsterkere og forsterkningen er angitt i figuren. Fra A/D-kortet ble parametrene lagt på datafil.

Et termoelement er en lavohmig krets. De forsterkerne som er brukt har alle høy inngangsimpedans og oppsettet vil derfor være lite sensitivt for støy-signaler. Mikrofonistøy kan oppstå ved bevegelse av termoelementet eller ledninger. Arbeidets art gir imidlertid for små bevegelser av de elektroniske komponentene til at det genereres støy av betydning. Elektromagnetisk støy ("50 perioder"), ble filtrert bort i Gould forsterkerne, som er utstyrt med eget

filter for dette formålet. Signalet ble i tillegg filtrert med et 10 Hz lavpass-filter. Temperaturdataene ble etter lagring på fil filtrert matematisk med et 3 Hz lavpass Blackmann vindu (Asystant+, Asyst Software Technologies, NY, USA).

For å unngå innvirkning av forkortnings- og aktiveringsvarme (Woledge & Curtin, 1985), er de første 3 sekundene av en kontraksjon ikke inkludert i analysen. Beregning av dT/dt ble gjort ved lineær regresjon av temperturdata mot tid over de siste 8 sekundene av kontraksjonen, og datasett der $R^2 < 0.85$ ble forkastet.

Ved forsøk på mennesker må det elektriske utstyret som benyttes sikres, så feil på dette ikke medfører fare for forsøkspersonene. Alt det elektriske utstyret som er benyttet i direkte tilknytning til forsøkspersonen fikk strøm via en skilletransformator, som beskytter forsøkspersonen mot spenningsvariasjoner på nettet.

2.3.3 Innlegging og lokalisering av termoelementene

Alle invasive teknikker ble utført av en lege, som også var tilstede under forsøket. Innleggingen foregikk med forsøkspersonen sittende i den stolen der arbeidet ble utført, fordi dynamiske bevegelser etter innlegging førte til forflytninger av termoelementet inne i muskelen. M. vastus lateralis ble palpert fram og merket før innlegging.

Målet var å få termoelementet til å ligge i den mediale delen av muskelen, som er den mest fyldige. En mer proksimal innlegging ville kunne ramme muskelens innervasjonsområde og ble derfor unngått. Variasjoner i muskelstørrelse, mengde underhudsfett og lokalisering av muskelen gjorde nøyaktig karakterisering av beliggenheten til termoelementene vanskelig. Termoelemen-

Materialer og metoder

tene ble forsøkt lagt i muskelen i 15 - 30 mm dyp, basert på lengden av venflonen og vinkelen til huden.

Til å legge termoelementet inn i muskelen, ble det brukt venflon kanyler (Viggo AB, Sverige) med en ytre diameter på 1,4 mm. Huden over innstikkstedet ble barbert og desinfisert. Lokalanestesi (Xylocain 10mg/ml) av hud og muskel-fasciet ble brukt i de tilfeller forsøkspersonen ønsket det, men anestesering av muskelvev ble forsøkt unngått. Venflonen ble ført 5-6 cm på skrå inn i muskelen i samme retning som muskelfibrene. Deretter ble mandrengen trukket tilbake. Termoelementet ble skjøvet inn i kanylen til den møtte motstand i muskelvev. Kanylen ble så trukket tilbake og termoelementet festet til huden med sterilt plaster.

M. vastus lateralis ble valgt av to grunner. Normalt vil denne muskelen være fri for større nerver og blodkar. Risikoen for komplikasjoner ved invasive teknikker blir derfor liten. Det er videre gjort en rekke temperaturmåling- og metabolisme-studier på denne muskelen (Edwards, 1976; Spriet et.al., 1988; Vøllestad et.al.,1990), noe som vil gjøre det lettere å se resultatene i sammenheng med andre observasjoner av energiomsetning under kontraksjon.

2.4 Andre måleparametre

Rektaltemperaturmålingene ble foretatt med en rektalsonde (termistor) tilknyttet en forsterker (DU3S Ellab A/S, Danmark) med digital anvisning av temperaturen (± 0.1 °C). Apparaturens tidskonstant er langt mindre enn endringene i dyp kroppstemperatur.

Hjertefrekvens ble registrert med en frekvensmåler (PE 3000 Sportstester, Polar Electro, Finland). Avlesningen skjedde manuelt direkte fra måleenheten, som var festet til forsøkspersonens underarm.

Materialer og metoder

Oksygenopptaket ble målt ved spirometri. Utåndingslufta ble samlet i en Douglas-sekk via en slange med ventil. Mellom slangen og sekken var det en kran for dirigering av utåndingslufta ned i riktig sekk og en stoppeklokke for automatisk registrering av oppsamlingstid. Oppsamling av luft ble startet og stanset på samme tidspunkt i respirasjonssyklus. Volumet ble målt i et klokke-spirometer og justert etter trykk og temperatur til STPD (760 mm Hg, 0 °C og tørr luft). Innholdet av CO₂ og O₂ i utåndingslufta ble målt med en O₂ analysator (S3A/I, Ametek, Pittsburg, PA, USA) og en CO₂ analysator (Simrad Optronics, Oslo).

2.5 Statistikk

Beregning av dT/dt ble gjort ved lineær regresjon (minste kvadraters metode) i et statistisk databearbeidingsprogram (Asystant+, Asyst Software Technologies, NY, USA). Usikkerhetsanalyse i forbindelse med regresjonsanalysen er utført slik det er beskrevet i Bhattacharyya og Johnson (1977).

Resultater er presentert i teksten som middelvei ± standardavvik med antall målinger i parentes. Dersom andre beregninger er gjort er dette angitt i tilknytning til de enkelte resultater. Analyser av varians er gjort ved F-test (Bhattacharyya og Johnson, 1977). Undersøkelser av statistiske forskjeller mellom middelveier er gjort ved to utvalgs t-test og Wilcoxon signed-rank test (Asystant+). Alle testene er utført som ensidige og hvilken metode som er anvendt er angitt i teksten i hvert enkelt tilfelle.

3. RESULTATER

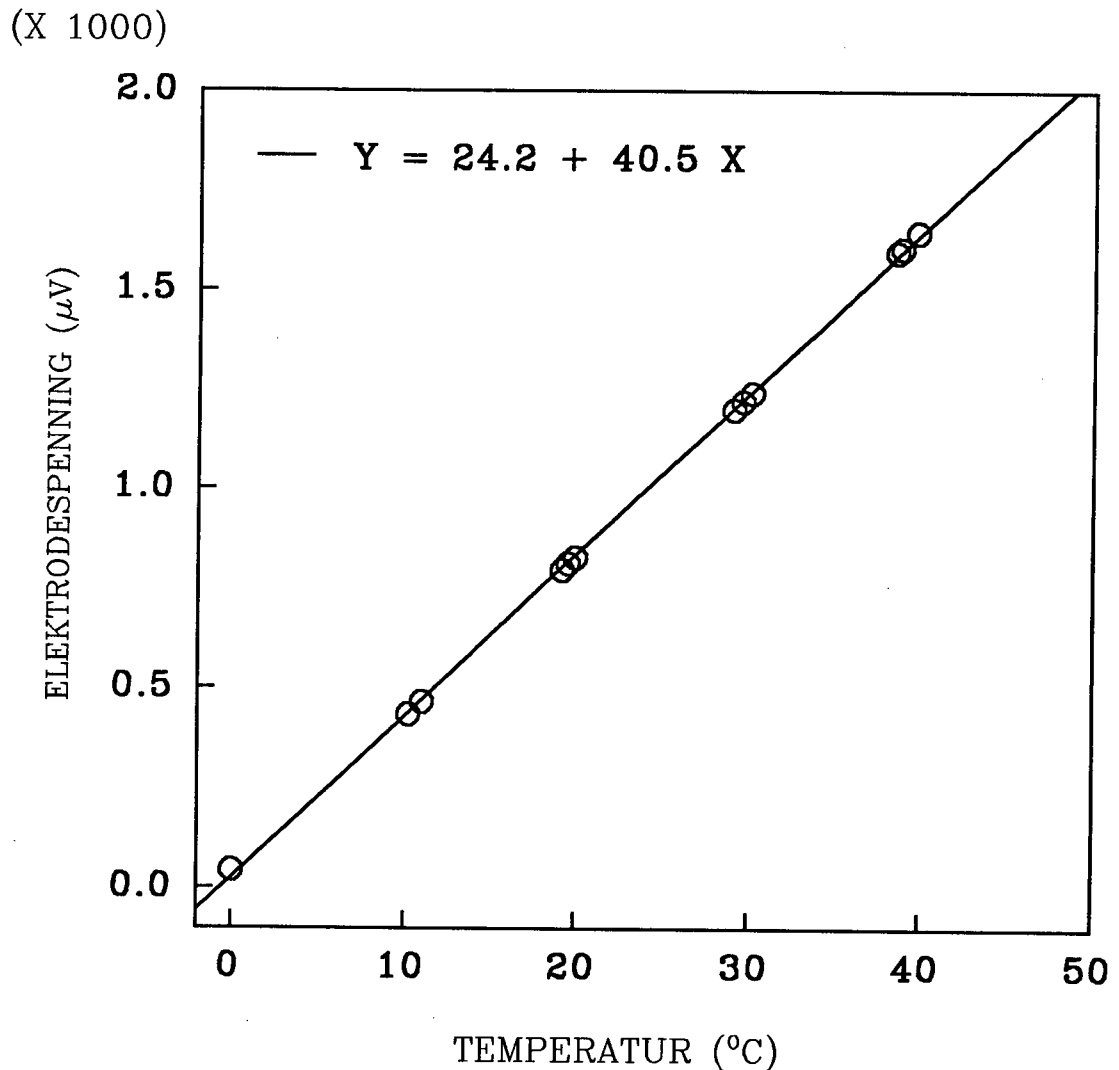
En betydelig del av arbeidet med oppgaven har vært å etablere metoden i laboratoriet ved STAMI og å undersøke om den er nøyaktig nok til å anvendes i måling av temporale endringer i metabolsk aktivitet. Jeg vil derfor presentere resultatene fra denne delen av arbeidet først. Resultatene fra den fysiologiske delen av problemstillingen blir presentert i andre del av dette kapittelet.

3.1 Metodeundersøkelser

Jeg forsøkte i startfasen av arbeidet å bruke buttsveisede-/loddede elementer konstruert slik at de kunne trekkes gjennom muskelen. Formålet var å gjøre plasseringen av målepunktet mer presis enn det som var mulig med innlegging gjennom kanyle. Ved buttsveising ble koblingspunktet for svakt og ved lodding ble koblingspunktet så stivt i forhold til tråden at brudd oppstod av den grunn. Av hensyn til forsøkspersonenes sikkerhet ble det derfor brukt termoelementer som var konstruert slik det er beskrevet i kapittel 2, avsnitt 2.3.1. Innlegging gjennom venflon gjorde det imidlertid vanskelig å gi en nøyaktig karakterisering av beliggenheten til termoelementene.

Termoelementene trakk til seg blod under forsøkene og de ble derfor bare brukt en gang. Måleoppsettet ble kalibrert før og etter forsøk. Kalibreringene viste at oppsettet ga stabile måleverdier innenfor det tidsrom forsøket varte. Termoelementene ga tilnærmet lineær respons ved kalibrering mellom 0 °C og 40 °C (figur 3.1). Gjennomsnittlig respons, beregnet ved lineær regresjon, var $40.1 \pm 0.2 \mu\text{V}/^\circ\text{C}$ (n=30), mens verdien oppgitt fra fabrikanten er $41.5 \mu\text{V}/^\circ\text{C}$. Avvik fra tabellverdi kan skyldes ulik ledningsevne i vann (kalibrering) og i muskel. Sett i forhold til problemene med bevegelse av termoelementene under forsøket, er imidlertid kalibreringsavviket ikke av vesentlig betydning for tolkningen resultatene.

Resultater



Figur 3.1: Kalibreringslinje for et typisk termoelement som viser elektrisk respons i forhold til temperatur i vannbadet. Den heltrukne linjen er beregnet ved lineær regresjon av kalibreringsdataene.

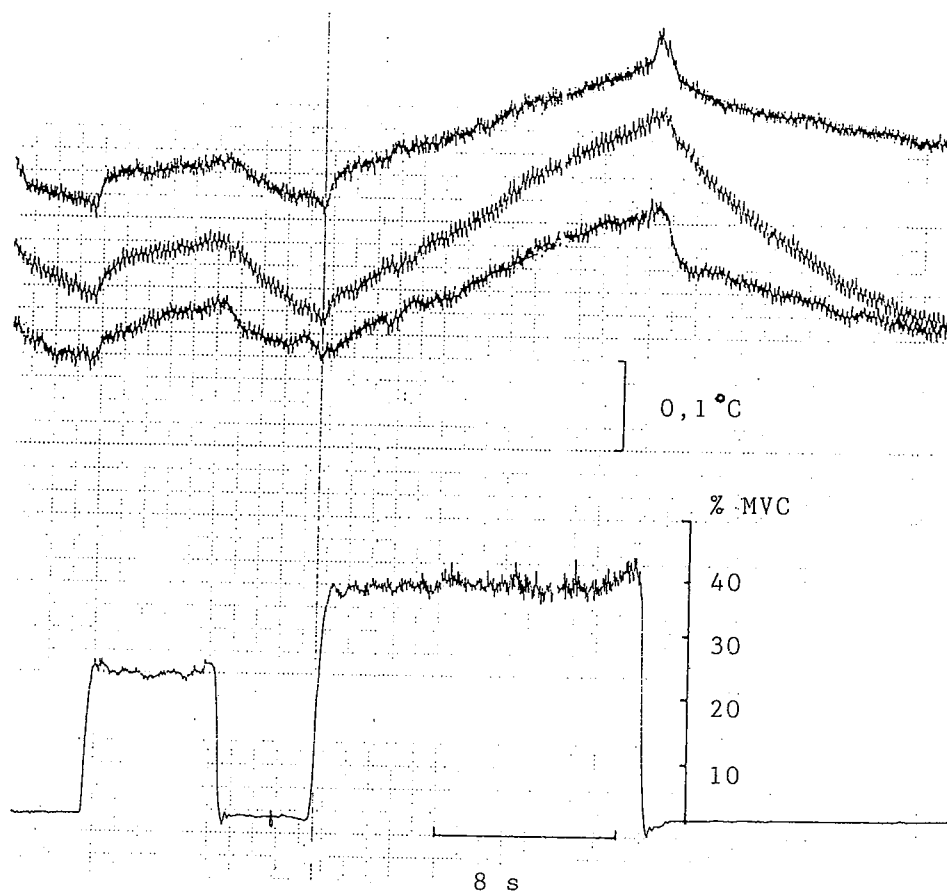
Forsterkningen på de tre temperaturkanalene ble justert slik at de alle ga lik respons. Et kopper-konstantan termoelement gir ikke en helt lineær spenningsøkning ved endringer i temperaturen og dette kan ha betydning ved registrering av store temperaturforskjeller. Temperaturvariasjonene i muskel er imidlertid så små at responsen kan betraktes som lineær ($R^2 > 0.999$ for regresjonslinjene) for målinger endring i av muskeltemperatur. På grunnlag av residualer fra

Resultater

regresjonsanalyser av kalibreringsdata, ble maksimalt avvik ved en temperaturøkning på 5 °C beregnet til 0.2 °C

Måleoppsettet hadde en drift i respons som tilsvarte 0.1 °C/time. Denne driften kunne ikke tilskrives den elektriske apparaturen, men skyldtes temperaturendringer i isbadet. I beregninger av muskeltemperatur er det derfor tatt hensyn til at responsen endrer seg over tid. Tidskonstanten til måleoppsettet ble beregnet ved å overføre termoelementet fra luft ved ca. 20 °C til vannbad ved 0 °C. Med et lavpass-filter på 10 Hz var tidskonstanten 0.5 sekunder.

Signalet



Figur 3.2: Registrering fra en 6 sekunders 30%- og en 15 sekunders 40% kontraksjon. De tre øverste kurvene viser temperaturendringene og den nederste viser kraften. Signalet er filtrert med ett lavpassfilter på 10 Hz.

Resultater

Av 5-8 innlagte termoelementer i hvert forsøk, var det i gjennomsnitt 2-3 som ga lineær respons (R^2 -verdi > 0.85). I de fleste forsøkene ble en stabil respons etablert i løpet av 2-3 testkontraksjoner på ca 50% av MFK, men i enkelte tilfelle måtte både flere testkontraksjoner og innlegging av nye termoelementer til.

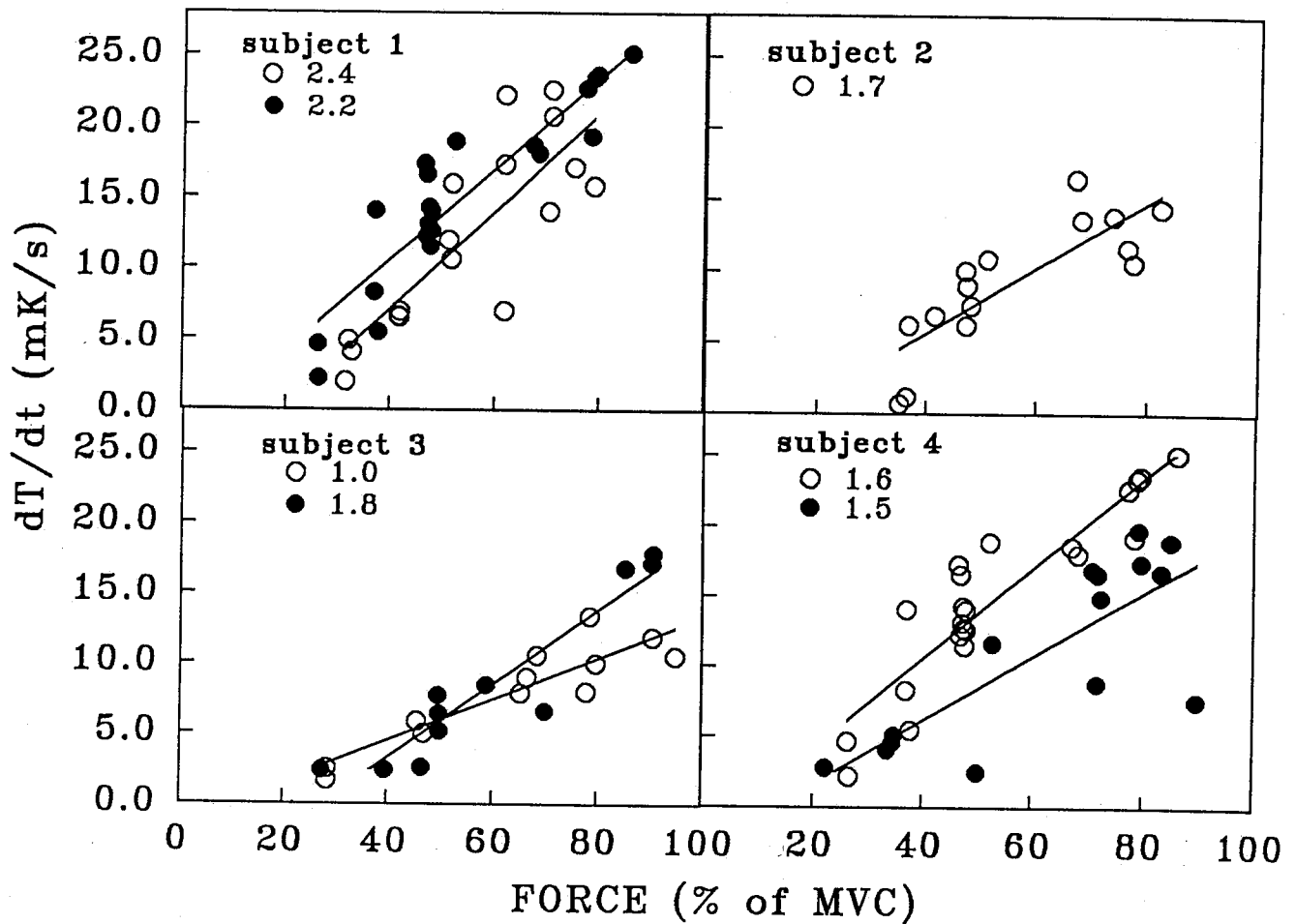
Under kontraksjoner på mellom 20 og 90 % av MFK økte temperaturen lineært med tiden etter 2-3 sekunder (figur 3.2). Registreringen i de første sekundene av kontraksjonene var påvirket av bevegelsesartifakt og er derfor ikke inkludert i analysen. Det var ikke signifikante forskjeller ($P < 0.01$; $n=40$; Wilcoxon signed rank test) mellom dT/dt i hhv. første og siste halvdel av 15 sekunders kontraksjoner.

For å studere stabiliteten til responsen utførte fire forsøkspersoner 10 kontraksjoner på 40 % av MFK. Tre termoelementer fra hver person ga resultater som ble inkludert i analysen. Den gjennomsnittlige temperaturstigningshastigheten var $6.9 \pm 0.7 \times 10^{-3} \text{ } ^\circ\text{C s}^{-1}$. Variasjonskoeffisienten på en lokalitet for 10 kontraksjoner på 40% av MFK var i gjennomsnitt 35% ($n=12$). Variasjonen i responsen skyldes variasjon mellom ulike lokaliteter i muskelen, mellom forsøkspersoner og mellom ulike kontraksjoner i samme forsøk. Det ble funnet signifikante forskjeller i respons mellom ulike lokaliteter ($P < 0.001$; F-test). Med bare 4 forsøkspersoner lot det seg ikke gjøre å undersøke om det var signifikante forskjeller mellom disse. Det var imidlertid ikke signifikante forskjeller i respons mellom ulike kontraksjoner på en lokalitet ($P > 0.05$; F-test).

To faktorer ser i særlig grad ut til å innvirke på responsen. Den ene av disse er blødninger som følger av innlegging av venflonen. De fleste av disse blødningene oppstod i huden, og det var svært sjelden at termoelementer som var lagt inn under slik blødning ga lineær respons. Den andre faktoren er i hvilken grad termoelementet fester seg inne i muskelen. Termoelementer som ga god

Resultater

respons hadde under uttrekking et adskillig bedre feste i muskel eller fasciet enn ikke-responderende TE.

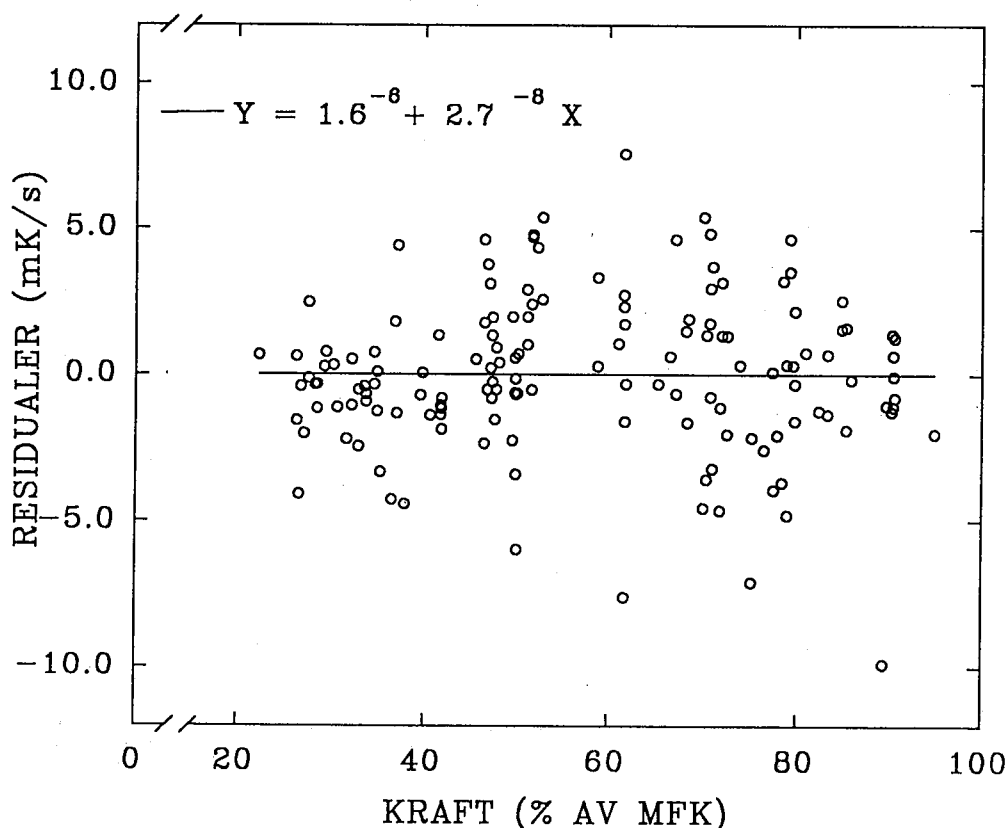


Figur 3.3: Endring i temperaturstigningsrate mot isometrisk kraftnivå for fire forsøkspersoner. Lukkede og åpne symbolene for målinger fra ulike lokaliteter og linjene er de beregnede regresjonslinjene. Stigningstallet til regresjonslinjene er vist i vilkårlige enheter øverst i venstre hjørne i hvert panel.

Sammenhengen mellom dT/dt og isometrisk kraftnivå ble undersøkt ved at forsøkspersonene utførte tyve 15 sekunders kontraksjoner på tilfeldige nivåer mellom 30 og 90% av MFK. For alle termoelementene var det et rettlinjett

Resultater

forhold mellom dT/dt og kraftnivå (figur 3.3 og 3.4). Forholdet mellom dT/dt og kraft for hver lokalitet, ble bestemt ved lineær regresjon. Gjennomsnittlig stigningskoeffisient for regresjonslinjene var $2.4 \pm 0.7 \times 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C s}^{-1} \text{ \%MFK}^{-1}$ ($n=11$), med øvre og nedre verdier på hhv. 3.5×10^{-4} og 1.3×10^{-4} . Gjennomsnittlig usikkerhet for regresjonskoeffisientene (b/S_b) ble beregnet til 15% og gjennomsnittlig spredning rundt regresjonslinjene (S_{yx}) til $7.0 \times 10^{-6} \text{ } ^\circ\text{C s}^{-1}$. Residualene fra de enkelte regresjonsanalysene viser ingen systematiske avvik fra en lineær respons i det aktuelle måleområdet (figur 3.4).

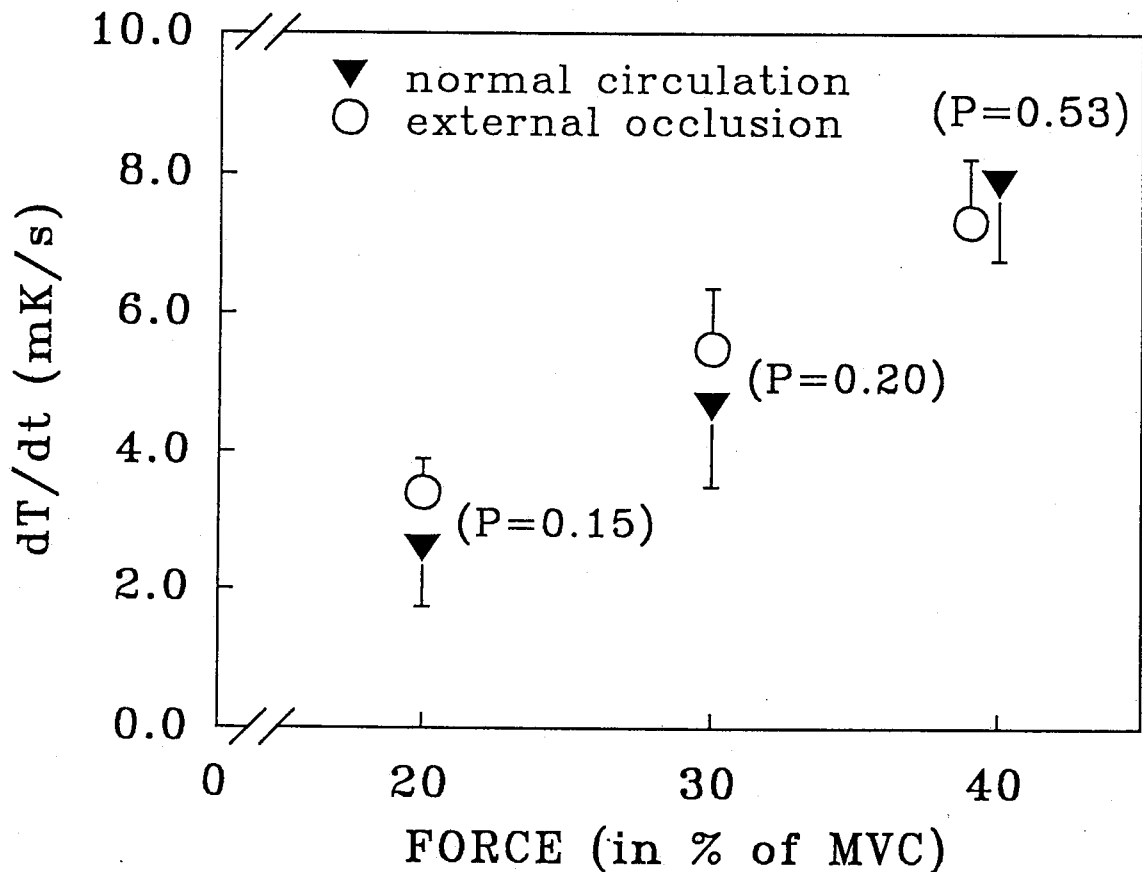


Figur 3.4: Residualer fra regresjonsanalyse for 11 TE som er inkludert i studiet av sammenhengen mellom dT/dt og kraftnivå. Regresjonslinjen er inntegnet og konstantene gitt i figuren.

Med unntak av en lokalitet hadde alle regresjonslinjene et negativt skjæringspunkt med y-aksen. Fordi muskelen også har en hvile metabolisme, vil det forventede skjæringspunkt være på den positive del av y-aksen. Linjer trukket fra nedre ende av regresjonslinjen til origo har et slakere forløp enn de tilsva-

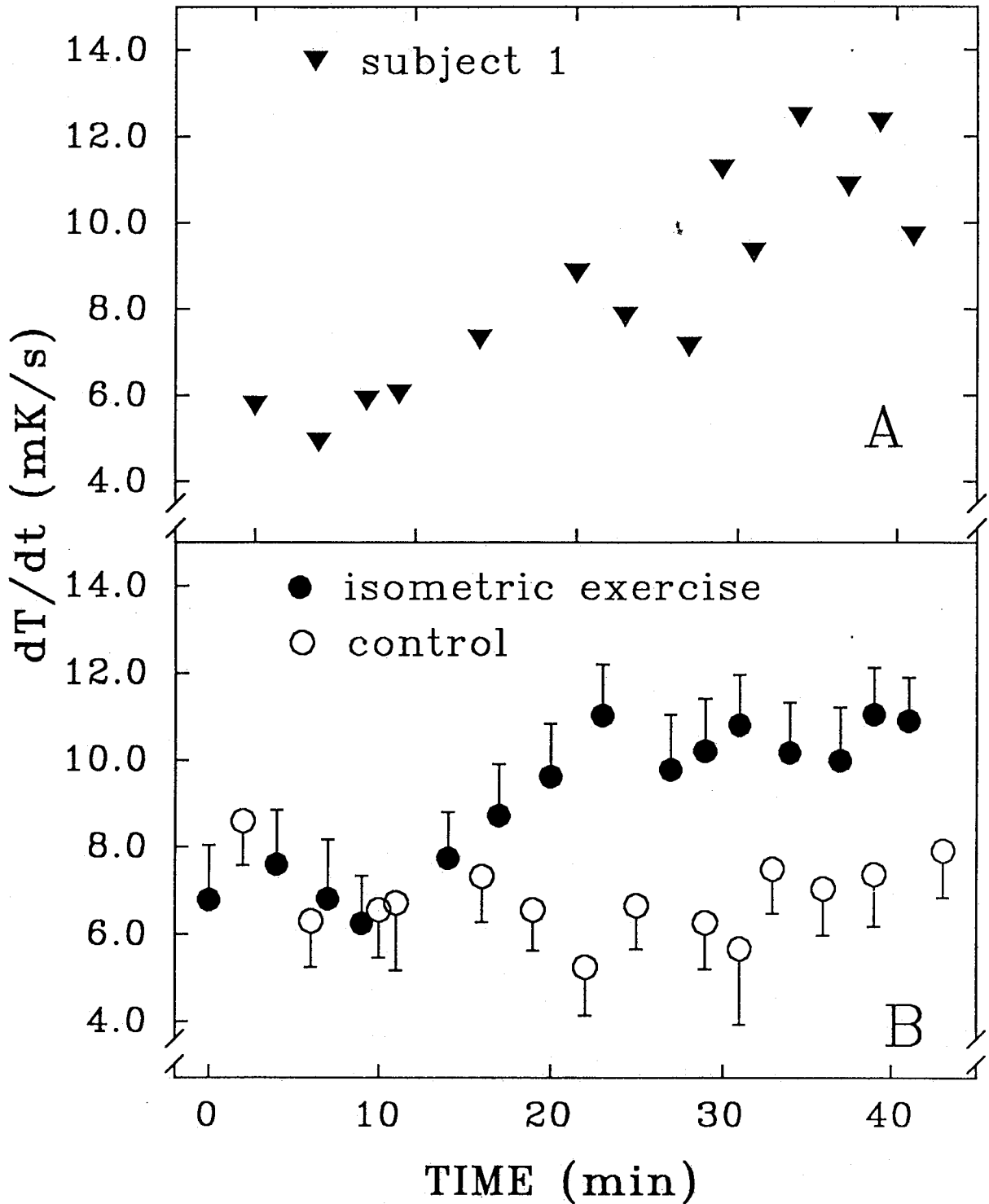
Resultater

rende regresjonslinjer og antyder en annen proporsjonalitetsfaktor mellom dT/dt og kraft på lave kraftnivåer. Jeg ville studere om muskelen får tilført eller fjernet varme med blodsirkulasjon under kontraksjon. Forsøkspersonene utførte derfor kontraksjoner hhv. med og uten ekstern okklusjon på nivåer fra 10 til 40% av MFK. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom kontraksjoner med og uten okklusjon på 20 (n=9), 30 (n=14) og 40% (n=16) av MFK ($P > 0.05$; Wilcoxon signed-rank test)(figur 3.5). Under kontraksjoner på 10% av MFK var fluktasjonene i signalet store. Verdiene fra disse kontraksjonene faller derfor utenfor mitt inklusjonskriterium.



Figur 3.5: Temperaturstigningsraten på lave kraftnivåer hhv. med og uten ekstern sirkulatorisk okklusjon. Okklusjonen ble gjort med en oppblåsbar mansjett proksimalt for termoelementene. Mansjetten ble før kontraksjon blåst opp til ett trykk på 300 mm Hg.

Resultater



Figur 3.6: Endringer i temperaturstigningsraten (dT/dt) over tid under langvarig repetert isometrisk arbeid og under kontroll forsøk; A) Data fra en lokalitet under arbeid. B) Gjennomsnitt av verdier under arbeids- og kontrollforsøk (n=11).

Resultater

3.2 Langvarig repetert isometrisk arbeid

Fem forsøkspersoner utførte repeterte isometriske kontraksjoner på 30% av MFK til utmattelse. Tid til utmattelse var 52 ± 8 minutter. dT/dt ble målt under 15 sekunders kontraksjoner på 40% av MFK. Mot slutten av arbeidet medførte disse kontraksjonene en betydelig merbelastning, noe som ga seg utslag i muskelskjelving. Skjelvingen førte til økt fluktuasjon i temperatursignalet med påfølgende eksklusjon av mange av observasjonene. Jeg har derfor valgt å begrense analysen til de første 40 minuttene av arbeidet.

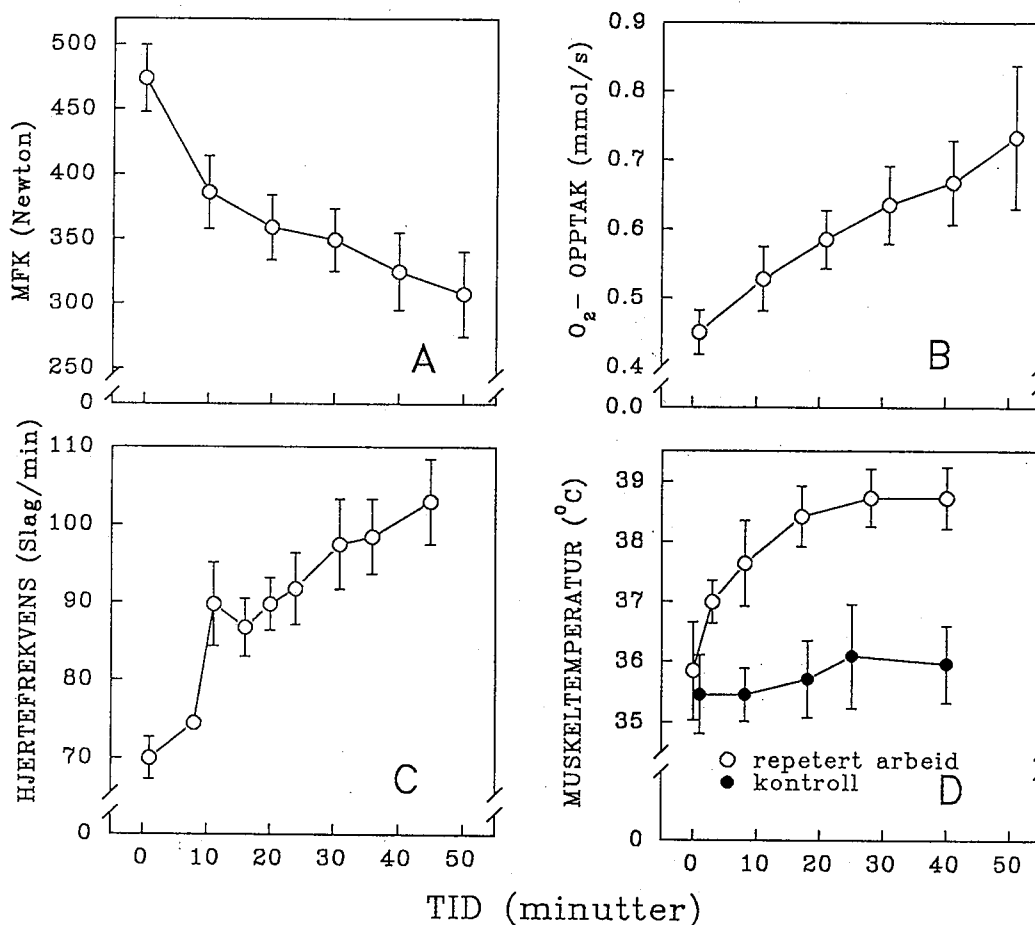
Lineær regresjon av tidutviklingen til dT/dt viste en signifikant større økning under det repeterte arbeidet enn i kontrollforsøkene ($P < 0.01$; to-utvalgs t-test). Varmeproduksjonsraten økte gradvis i denne perioden fra $6.8 \pm 1.0 \times 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$ til $1.1 \times 10^{-2} \pm 0.1 \times 10^{-2} \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$ ($n=11$). Dette er en økning i forhold til utgangsverdien på ca. 65%. Under kontrollforsøkene, der forsøkspersonen hvilte mellom 15 sekunders kontraksjonene, var det ikke noen systematisk endring i dT/dt i løpet av 40 minutter ($P < 0.01$; test av stigningskoeffisient).

Arbeidet medførte en betydelig økning i muskeltemperatur i forhold til kontrollforsøk (figur 3.7D). Temperaturen økte fra $35.8 \pm 0.8 \text{ }^\circ\text{C}$ før arbeidet til $38.8 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ etter 40 minutter. Rektaltemperaturen økte i det samme tidsrommet fra $37.1 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$ til $37.8 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$. Under kontrollforsøkene var økningen i muskeltemperatur på ca $0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ og rektaltemperaturen var uforandret.

Oksygenopptaket økte lineært med tiden fra $0.45 \pm 0.03 \text{ mmol s}^{-1}$ etter ett minuts arbeid til $0.67 \pm 0.06 \text{ mmol s}^{-1}$ etter 40 minutter ($n=4$). Dette tilsvarer en gjennomsnittlig økning på $48 \pm 4\%$ i opptak over lungene (figur 3.7B og 3.8). Samtidig økte hjerterefrekvensen med $45 \pm 7\%$ (figur 3.7C og 3.8). Den absolutte

Resultater

Økningen var fra $74. \pm 1$ slag min^{-1} til 105 ± 8 slag min^{-1} . Også hjertefrekvensen ser ut til å øke lineært med tiden under et slikt langvarig arbeid.



Figur 3.7: A: Endring i MFK over tid (n=5).

B: Endring i O₂ opptak over lungene over tid (n=4).

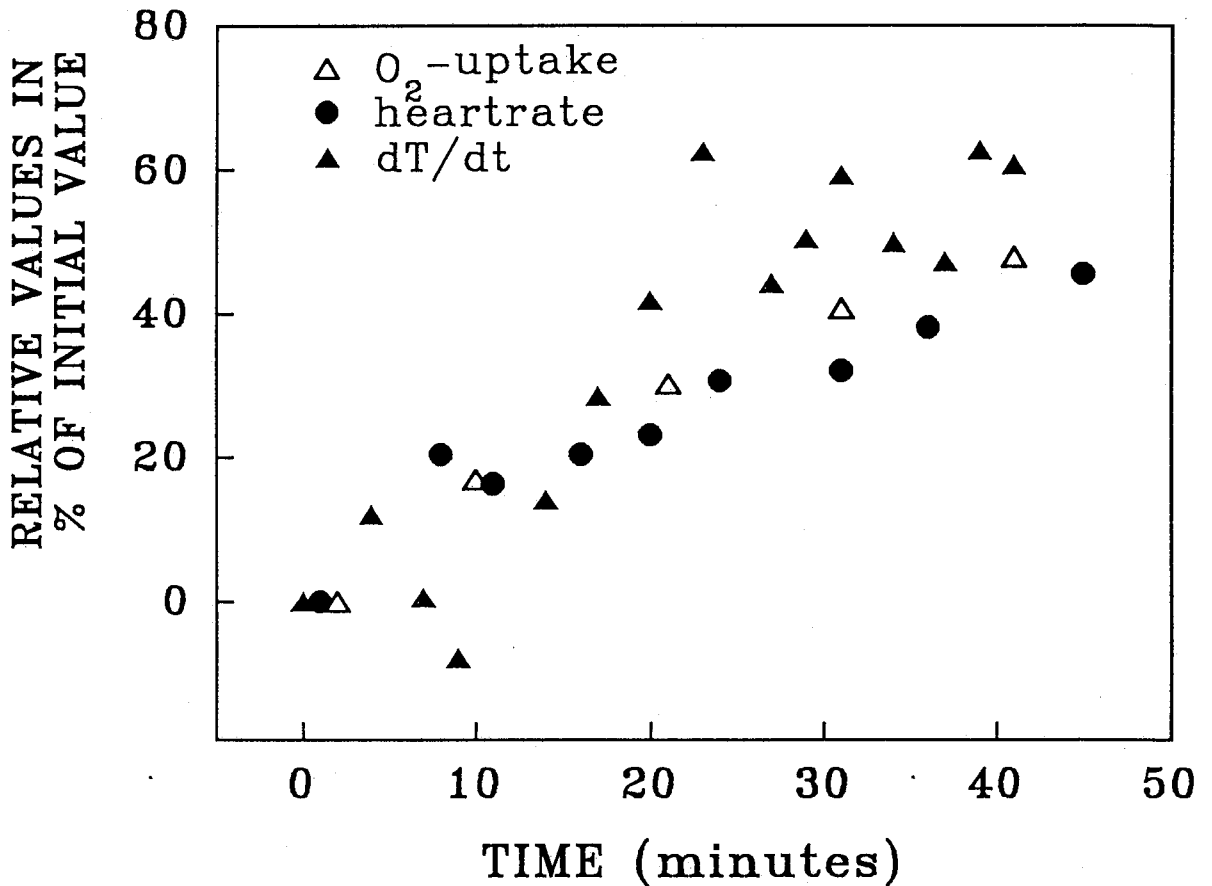
C: Endring i hjerterefrekvens over tid i slag min^{-1} (n=4).

D: Endringer i muskeltemperatur under arbeid og i kontrollforsøk (n = 11)

En gradvis økende muskeltretthet over tid ble reflektert i et fall i maksimal frivillig kraft fra en utgangsverdi på 474 ± 53 N til 308 ± 30 N (n=5). Relatert til utgangsverdi var fallet i MFK etter 50 minutter $35 \pm 5\%$ (figur 3.7A). Også MFK endret seg tilnærmet lineært med tid, men endringene i de første 10 minuttene hadde et brattere forløp enn i den resterende delen av arbeidet. Et slikt fall i MFK fører til at forsøkspersonen arbeider med en stadig høyere

Resultater

relativ (arbeidskraft : MFK) belastning. Fordi arbeidskraften er konstant, vil altså den relative kraften øke lineært med tid.

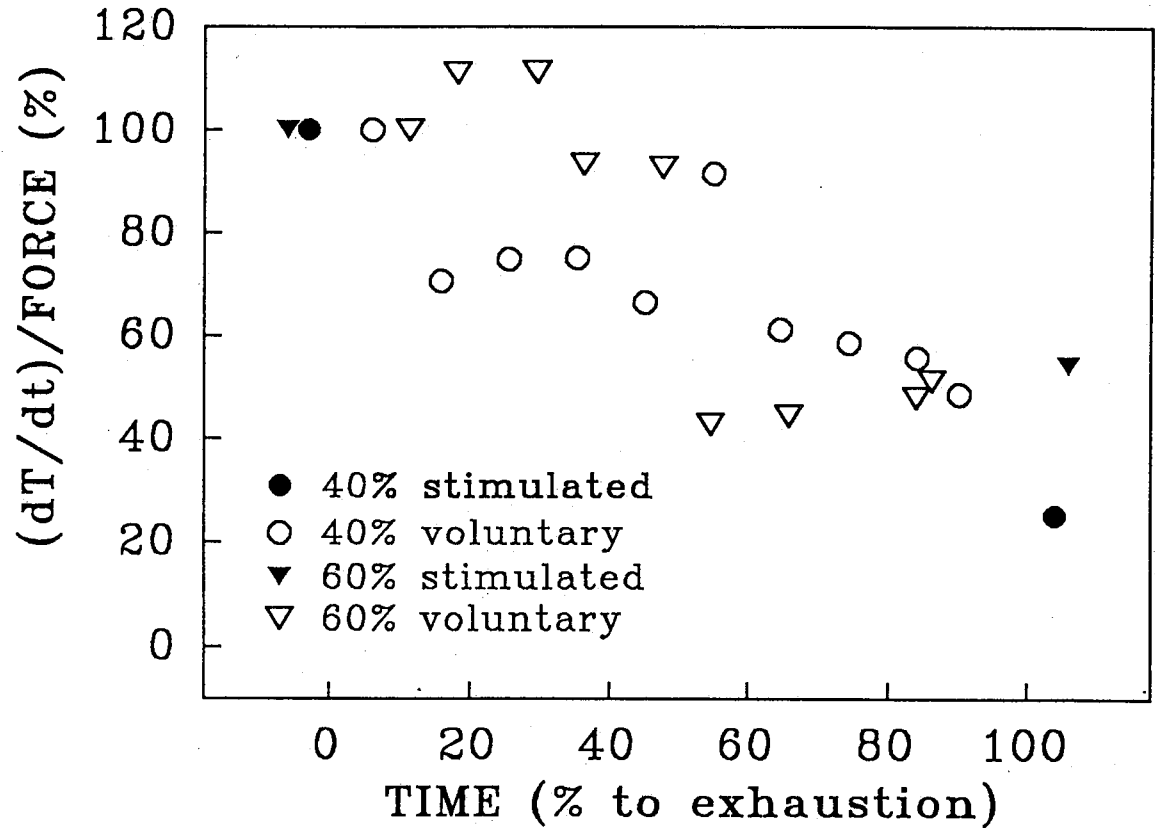


Figur 3.8: Endringer i O₂-opptak, hjertefrekvens og dT/dt under et langvarig repetert isometrisk arbeid i % av utgangsverdier.

Som nevnt har langvarige isometriske kontraksjoner vært assosiert med en bedring i muskelens "mekaniske effektivitet". For å undersøke om mitt forsøksoppsett ga samme resultat, gjorde jeg et forsøk med langvarige kontraksjoner. Under en langvarig isometrisk kontraksjon på 40% av MFK, ble kraften holdt så lenge forsøkspersonen orket. I løpet av denne tiden (ca 1,5 min.) falt forholdet mellom energiomsetning og kraft med over 50%. For elektrisk stimulerte tetanus like før og etter denne kontraksjonen var endringen nærmere 70%. Denne bedringen i "effektivitet" skjedde også under en langvarig kontrak-

Resultater

sjon på 60% av MFK også her både for frivillig kontraksjon og elektrisk stimulering.



Figur 3.9: Forholdet mellom energiomsetningshastighet og kraft for langvarige isometriske kontraksjoner på 40% og 60% av maksimal frivillig kraft. Verdiene er fra en forsøksperson. Y-aksen viser endring i forhold til utgangsverdi i prosent.

Diskusjon

4. DISKUSJON

Resultatene kan oppsummeres i følgende hovedfunn. Under isometriske kontraksjoner på mer enn 20% av MFK, innvirker ikke sirkulasjonen på temperaturstigningsraten. Det er et lineært forhold mellom dT/dt og kraft for kontraksjoner mellom 30% og 90% av MFK, men med en stor variabilitet i respons. Repeterte isometriske kontraksjoner fører til en gradvis økning i dT/dt og O_2 -opptak utover i arbeidet. Det repeterte arbeidet fører også til et gradvis fall i muskelstyrke.

4.1 Signalet

Responsen under temperaturmålingene må vurderes utfra to faktorer. 1) Responsen i den enkelte kontraksjon og 2) variasjon i responsen på en lokalitet over flere like kontraksjoner. Mindre enn halvparten av de innlagte termoelementene ga resultater som var stabile nok til at de kunne inkluderes i undersøkelsen. De termoelementene som ga varierende eller dårlig respons ga liten motstand under uttrekking og hadde antakelig ikke godt feste i muskelvevet. Muligheten for bevegelse av termoelementet under kontraksjon er derfor til stede og intramuskulære temperaturgradienter (Saltin *et al.*, 1968) vil kunne føre til fluktuasjoner i responsen til disse termoelementene under kontraksjon.

Temperaturen steg lineært med tiden under en kontraksjon på 15 sekunder. Separate analyser av dT/dt i første og andre halvdel av kontraksjoner på 40% av MFK, viste at det ikke var signifikante endringer i temperaturstigningsraten i løpet av en kontraksjon på 15 sekunder. Det er imidlertid flere grunner til å stille spørsmål ved et slikt funn. Det er tidligere rapportert om en høyere varmeproduksjonsrate i de første 4-5 sekundene av kontraksjon i froskemuskel, som en følge av aktiverings og forkortningsprosesser (se: Hill, 1965; Woledge *et al.*, 1985). Edwards og medarbeider (1975a) har videre observert en gradvis reduksjon i forholdet varmeproduksjonsrate : kraft under langvarige isometriske kontraksjoner i human muskel, men har først beregnet dette forholdet etter 12 sekunders kontraksjon.

Diskusjon

Den innledningsvis høye varmeproduksjonsraten, som skyldes aktiverings- og forkortningsvarme, vil sannsynligvis skjules av bevegelsesartifaktet i temperatursignalet ved begynnelsen av en kontraksjon. Mine funn peker heller ikke i retning av noen endring i forholdet mellom dT/dt og kraft under en kontraksjon på 15 sekunder og jeg vil derfor i den videre diskusjonen ta utgangspunkt i at varmeproduksjonsraten under en 15 sekunders kontraksjon på 40% av MFK er konstant.

For kontraksjoner på 40% av MFK var det stor variasjon i reponsen mellom samtidige registreringer fra ulike lokaliteter, mellom forsøkspersonene og mellom flere like kontraksjoner på en lokalitet under ett forsøk. Fordi kalibreringene viste svært liten variasjon i respons fra gang til gang, kan man se bort fra måleoppsettet som kilde til denne variasjonen.

Variasjon mellom forsøkspersoner og mellom ulike lokaliteter hos en forsøksperson kan forstås på bakgrunn av forskjeller i fibertypesammensetning (Lexell *et al.*, 1983) og motoriske aktiveringsmønstre (se: Burke, 1981; Saltin og Gollnick, 1983). Type II fibre har en energiomsetning som er flere ganger høyere enn type I fibre på et gitt kraftnivå (Bolstad og Ersland, 1978). Lexell og medarbeidere (1983; 1986) fant store variasjoner i andel av type I fibre i ulike deler av m. vastus lateralis. Ved å studere deler av muskeltverrsnitt på ca 50 mm² fant de en variasjon i andel type I fibre på over 100% i områder av muskelen som lå få mm fra hverandre.

Under forutsetning av at varmekonduksjonen i muskel er tilnærmet den samme som i vann følger det av Newtons varmelov at termoelementet i løpet av 15 sekunder registrer fra et område med en diameter på ca 30 mm². Ulik metabolsk aktivitet pga. varierende fraksjon av type I fibre kan derfor forklare den store variasjonen i dT/dt . I studiet av endring i varmeproduksjonen over tid er det endringene på et gitt område som måles og variasjon mellom ulike lokaliteter og forsøkspersoner er derfor ikke av vesentlig betydning. Forflytninger av

Diskusjon

termoelementet under et forsøk vil derimot være uheldig for studiet av endringer over tid.

Små forflytninger av termoelementet mellom kontraksjoner vil også kunne føre til store forandringer i respons som følge av variasjoner i fibertypesammensetning. Variasjonskoeffisienten for ti 15 sekunders 40% kontraksjoner på en lokalitet var i gjennomsnitt så høy som 35%. Dette til tross for at det var en meget linær økning i temperaturen i de enkelte kontraksjonene ($R^2 > 0.85$). Registreringsområdet til termoelementet er som nevnt ifølge Newtons varmelov avhengig av registreringstiden og konduksjonskonstanten for varme i muskelvev. For kontraksjoner av lik varighet er det derfor varmeproduksjonen i et bestemt volum som måles. Endringer i dT/dt kan derfor enten skyldes forflytning av termoelementet mellom områder med ulik varmeproduksjon eller lokale variasjoner der termoelementet er plassert.

Bruk av termoelementer med "mothaker", vil redusere variasjonen i respons betraktelig (Edwards *et al.*, 1974) og dette tyder på en forflytning av termoelementet mellom kontraksjonene forårsaker en vesentlig del av variabiliteten. Denne konklusjonen forsterkes av bevegelsesartifaktene i temperaturresponsen ved start av kontraksjon, noe som tyder på en forflytning av termoelementet i det muskelen kontraheres. Dersom termoelementet skal ha en eller annen form for "mothaker", vil det enten måtte være stivere eller tykkere enn det jeg har brukt. Muligheten for strukturelle brudd og andre komplikasjoner vil da øke og jeg har derfor av hensyn til forsøkspersonenes sikkerhet ikke valgt slike løsninger.

En annen mulig forklaring på responsvariasjonene kan altå være en lokal endring i metabolsk aktivitet rundt termoelementet. Rekrutteringsrekkefølgen til motorneuronene er imidlertid forholdsvis fast (se: Burke 1981). Videre er ca. 50% av alle muskelfibrene i m. vastus lateralis i aktivitet ved 30% av MFK (Vøllestad *et al.*, 1991). På basis av dette vil en vente liten variasjon i akti-

Diskusjon

veringsrekkefølgen til de enkelte motoriske enheter fra kontraksjon til kontraksjon på 40% av MFK. Likeledes er et lineært forhold mellom kraft og energiomsetningshastighet godt dokumentert (Edwards *et al.*, 1975a; Edwards, 1976; Kushmerick 1983). Lokale endringer i metabolsk aktivitet er derfor neppe en vesentlig årsak til responsvariasjonene.

Under alle forsøkene ble det trukket blod opp i isolasjonen fra enden til termoelementene og under kontraksjon ble det også presset små mengder blod ut gjennom termoelementet. Dette viser at lokale ødemer rundt termoelementet forekommer og det er rimelig å anta at størrelsen på disse vil variere; avhengig av lokal blodtilstrøming, lymfedrenasje og intramuskulært trykk. Stabiliteten til dT/dt gjennom en kontraksjon viser imidlertid at eventuelle blodansamlinger i muskelvevet må være jevnt fordelt mellom muskelfibrene i området. Ved forflytninger vil TE kunne komme til å ligge i områder med ulikt innhold av blod og bindevev. Dette forsterker konklusjonen om at responsvariasjonene i hovedsak skyldes forflytninger av termoelementet mellom kontraksjoner.

4.2 Termodynamiske forutsetninger

4.2.1 Forholdet mellom dT/dt og kraft

En av hensiktene med dette studiet har vært å undersøke om dT/dt er et mål for metabolsk aktivitet. Jeg gjorde derfor en forsøksserie der forsøkspersonene utførte kontraksjoner på nivåer mellom 30 og 90% av MFK. Slike forsøksserier er gjort tidligere (Akre og Aukland, 1970; Edwards *et al.*, 1975a; Bolstad og Ersland 1978), men med muskel som arbeidet anaerobt fra start av kontraksjon. Ved repetert isometrisk arbeid vil muskelen starte kontraksjonene med O_2 -reservene intakte. Det var derfor viktig å etablere forholdet mellom dT/dt og kraft for muskel som har en mulighet for oksydativ metabolisme under kontraksjon.

Diskusjon

Temperaturstigningsraten steg lineært med kraft i området mellom 30 og 90% av MFK. Dette er i overenstemmelse med tidligere observasjoner under anaerobe forhold i m. vastus lateralis (Edwards *et al.*, 1975a; Edwards, 1976). Edwards og medarbeidere (1975a) beskriver også et lineært forhold mellom ATP-omsetningsrate og kraft for kontraksjoner mellom 30 og 90% av MFK, noe som støttes av flere andre studier (se: Kushmerick, 1983). Det kvantitative forholdet mellom dT/dt og kraft er i samme størrelsesorden i denne undersøkelsen som det som ble funnet av Edwards og medarbeider (1975a). Jeg konkluderer derfor med at dT/dt er et godt mål for metabolsk aktivitet også når muskelen starter kontraksjonen med fulle O_2 -reserver.

I kortvarige og anaerobe isometriske kontraksjoner står ATP-hydrolyse og nedbrytning av kreatinfosfat for nesten all varmeproduksjonen (Edwards *et al.*, 1975a; Sjöholm *et al.*, 1983). Om disse to reaksjonene bidrar til varmeproduksjonen i samme grad når muskelen er oksygenert er ikke klart. Om ATP-resyntesen i den første delen av kontraksjonen istedet skjer ved oksydativ nedbrytning av glykogen, vil imidlertid ikke det føre til stor endring i varmeproduksjonen (tabell 1.1, kolonne 2) Varmeproduksjon pr. mol ATP-resyntese er tilnærmet den samme for nedbrytning av kreatinfosfat som for oksydativ nedbrytning av glykogen.

Dersom den lineære sammenhengen mellom dT/dt og kraft ekstrapoleres til 0% av MFK vil linjene skjære på den negative delen av y-aksen og derved indikere en varmeabsorpsjon i hvile (figur 3.3). En slik ekstrapolering kan følgelig ikke gi et riktig bilde av energiomsetningsraten i muskelen ved lave kraftnivåer. Økt aktivering av muskel gir en sekvensiell økning i rekruttering av motoriske enheter der type I enheter rekrutteres før type IIa og type IIb (Milner-Brown *et al.*, 1973; Gollnick *et al.*, 1974). Disse data underbygges av funnene til Vøllestad og medarbeidere (1991) som viser at 40-50 % av kraften på 30% av MFK kan tilskrives type I fibre. Fordi type I fibre antas å ha et lavere forhold mellom energiomsetningsrate og kraft enn type II fibre (Bolstad og Ersland, 1978), vil en

Diskusjon

på basis av rekrutteringsmønsteret kunne forvente et lavere forhold mellom kraft og dT/dt under lette kontraksjoner. En linje trukket fra dT/dt ved kontraksjoner på 30% av MFK til origo, vil ha stigningskoeffisienter i størrelsesorden 1/4 til 1/2 av koeffisientene til de tilsvarende regresjonslinjene. Forløpet av regresjonslinjene i denne undersøkelsen gir derfor sterk støtte til en antakelse om at økende aktivering skjer ved en gradvis økende rekruttering av type II motoriske enheter med lavere "mekanisk effektivitet" enn type I enheter.

Figur 3.3 viser at det er forskjeller i forholdet mellom dT/dt og kraft på ulike lokaliteter med en faktor på mellom en og to. Saltin og medarbeidere (1968) har påvist temperaturgradienter på opptil 3 °C i m. vastus lateralis. Med en Q_{10} på ca 3 for varmeproduksjon i muskel (Hill og Woledge, 1962), vil temperaturgradienter i muskelen også kunne innvirke på forholdet mellom dT/dt og kraft. Mine undersøkelser viser imidlertid ingen systematisk sammenheng mellom absolutt temperatur og forholdet mellom dT/dt og kraft på en lokalitet.

Lexell og medarbeidere (1983) fant en systematisk økning i andelen av type II fibre i dypere del av muskelen samt lokale variasjoner i fibertypesammensetning i benets lengderetning. Disse systematiske forskjellene i fibertypesammensetning vil kunne forklare ulike forhold mellom dT/dt og kraft på ulike lokaliteter. Dette ville kunne undersøkes ved å anvende metoden på muskler med hovedsaklig en fibertype som f.eks. m. soleus hos rotte.

4.2.2 Et termodynamisk lukket system?

Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom kontraksjoner på 20-40% av MFK alternerende med og uten ekstern sirkulatorisk okklusjon. Midlere arteriellt trykk øker noe under isometriske kontraksjoner, men mansjettrykket på minimum 300 mm Hg vil allikevel effektivt klemme sammen lokale blodkar. Særlig gjelder dette i m. vastus lateralis som er en flat og bred muskel lokalisert like under huden.

Diskusjon

En rekke studier konkluderer med avstenging av den lokale sirkulasjonen i denne muskelen ved isometriske kontraksjoner på mer enn 20-30% av MFK (Edwards *et al.*, 1972; Hargens *et al.*, 1981; Sejersted *et al.*, 1984; Wesche, 1986). Wesche (1986) observerte en retrograd blodstrøm i lårarterien under den første delen av en kontraksjon i m. quadriceps. Dette inntraff allerede ved kontraksjoner på 10% av MFK og skyldes antakelig at trykkøkningen presser blod ut av muskelen og samtidig okkluderer efferente blodkar. Det ser derfor ut som om blodgjennomstrømningen i m. vastus lateralis er avstengt allerede ved kontraksjoner på så lav kraft som 20% av MFK.

En annen mulig kilde til varmetap er konduksjon over huden. Hudtemperaturen ble ikke målt i denne undersøkelsen, men tidligere studier viser at den endres med under 1 °C under denne type arbeid (Saltin *et al.*, 1968). På basis av dette og det forhold at sirkulasjonen stoppes, kan m. vastus lateralis betraktes som et termodynamisk lukket system under kontraksjon allerede på 20% av MFK. Valget av 40% av MFK som referansenivå under det langvarige arbeidet gir derfor en god sikkerhet for at denne betingelsen er oppfylt.

Barcroft og Millen (1939) foreslo at sirkulatorisk okklusjon også vil kunne skje som en følge av mekanisk avsnøring av små arterioler i muskelen. De fleste av disse arteriolene går inn i dypet av muskelen vinkelrett på fiberretningen. Under kontraksjoner på 10-15% av MFK var fluktuasjonene i responsen så store at dette materialet ikke har blitt inkludert i undersøkelsen. Dersom mekanisk avstenging av arterioler bidrar til sirkulatorisk okklusjon under kontraksjon, vil denne faktoren antakelig bety mest under milde kontraksjoner når trykket i muskelen er lavt. Lokale variasjoner i blodtilstrømning vil øyeblikkelig påvirke temperaturregistreringene og kan således være en forklaring på fluktuasjonen i respons ved kontraksjoner på 10% av MFK.

4.3 Langvarig repetert submaksimalt isometrisk arbeid

Diskusjon

Jeg brukte samme protokoll som Vøllestad og medarbeider (1988; 1990; 1991) med unntak av måling av dT/dt . Mens det repeterte arbeidet bestod av kontraksjoner på 30% av MFK over 6 sekunder, foregikk målingen av dT/dt under kontraksjoner på 40% av MFK over 15 sekunder. Tid til utmattelse og fallet i MFK er rapportert av Vøllestad og medarbeidere til å være hhv. ca. 50 minutter og 45%. Dette er i samme størrelsesorden som i mine forsøk og det kan derfor antas at resultatene er sammenlignbare.

4.3.1 Endringer i "mekanisk effektivitet"

Varmeproduksjonsraten økte gradvis til gjennomsnittlig 65% over utgangsverdi i løpet av de første 40 minuttene av arbeidet. Tidsforløpet til økningen i dT/dt var svært varierende på ulike lokaliteter, noe som antas å skyldes variasjoner i respons som diskutert ovenfor. Enkelte registreringer indikerer imidlertid en tilnærmet lineær økning med tid (figur 3.6A). I det samme tidsrommet økte O_2 -opptaket over lungene med et gjennomsnitt på 48%. I et tidligere arbeid er det målt en tilsvarende økning i opptak over lungene og samtidig påvist en økning i O_2 -ekstraksjon på ca. 90% fra blod i den arbeidende muskulaturen (Vøllestad *et al.*, 1990).

Det økte O_2 -opptaket reflekterer en reduksjon i "mekanisk effektivitet" for hele arbeidet inkludert hvileperiodene mellom kontraksjonene. Endringene i dT/dt viser en effektivitetsendring i samme størrelsesorden, men begrenset til den tiden muskelen er kontrahert. Det må derfor diskuteres om disse to funnene reflekterer de samme biokjemiske begivenheter i muskelen.

Under langvarige isometriske kontraksjoner (figur 3.9) er det en tilsvarende økning i "mekanisk effektivitet". Bruk av identiske målemetoder i de to typene arbeid styrker antakelsen om at muskelens energiomsetning kan variere svært mye på et gitt kraftnivå. Med utgangspunkt i at dT/dt reflekterer ATP-omsetningsraten i muskelen, kan mulige årsaker til effektivitetsendringene deles i

Diskusjon

to. for det første kan en tenke seg muligheten for en endring i varmeproduksjon pr. mol ATP som resyntetiseres. En annen forklaringsmodell kan være at forbruket av ATP endres ved en gitt kraft.

4.3.2 Forholdet mellom ATP-forbruk og kraft

De viktigste prosessene under kontraksjon hydrolyserer ATP (tabell 1.1). I uthvilt muskel er ATP-omsetningshastigheten lineært proporsjonal med kraftnivået. Under et repetert isometrisk arbeid vil muskelstyrken avta og resultatet er at muskelen arbeider på en gradvis økende relativ kraft (forholdet mellom arbeidskraft og MFK på en bestemt tid i arbeidet). En kunne derfor tenke seg muligheten av at energiomsetningen i arbeidende muskel reflekterer forholdet mellom muskelstyrken og kraften muskelen arbeider ved. Dersom dette var tilfelle, ville energiomsetningen øke under det repeterete arbeidet fordi den relative kraften øker over tid.

Selv om ATP-omsetningshastigheten har en nær sammenheng med kraftutviklingen i uthvilt muskel, er det i flere studier vist at dette forholdet endres med tid (Edwards *et al.*, 1975a; Hultman og Sjöholm, 1983; Chasiotis *et al.*, 1987; Spriet *et al.*, 1987). Disse studiene viser imidlertid en reduksjon i energiomsetning i forhold til kraft under langvarig anaerobt isometrisk arbeid, noe et av mine forsøk bekrefter (figur 3.9). Det er imidlertid mange faktorer som er ulike under lanvarige- kontra repeterte kontraksjoner. Hypoteser knyttet til den ene av disse arbeidsformene kan derfor vise seg å være ugyldig for den andre.

Dersom en stor del av kraften i starten av arbeidet skyldes aktivitet i type I fibre, er det mulig at utvikling av muskeltretthet følges av en gradvis økende rekruttering av type II fibre. Resultatet ville isåfall bli en økning i varmeproduksjon fordi type II fibre har et adskillig høyere forhold mellom ATP-omsetning og kraft enn type I fibre (Bolstad og Ersland, 1978). Denne forskjellen antas å være knyttet til forskjeller i myosin-ATPase i ulike fibertyper (Guth og Samaha,

Diskusjon

1969). Vøllestad og medarbeidere (1991) har vist at kraften i starten av et slikt arbeide i hovedsak skyldes aktivitet i type I og IIa fibre. I det samme studiet observerte de også en gradvis økende rekruttering av type IIa og tupe IIb fibre utover i arbeidet. Hva som er årsaken til at stadig flere muskelfibere må aktiveres for å opprettholde kraften er imidlertid ikke klarlagt. En gradvis økende rekrutteringen av type II enheter vil reflekteres både i et økt O_2 -opptak og en økning i dT/dt .

Det er rimelig å anta at behovet for rekruttering av nye deler av muskelen skyldes kraftfall i de enhetene som var aktive fra starten av arbeidet. Dersom dette kraftfallet følges av en reduksjon i metabolsk aktivitet i de uttrettede fibre, vil økningen i energiomsetningsraten bare reflektere en gradvis overføring av belastningen fra "effektive" type I fibre til mindre effektive type II fibre. En slik økt rekruttering vil gi redusert "mekanisk effektivitet" for muskelen som helhet. Det er imidlertid funn som tyder på at de fibre som var aktivert tidlig i arbeidet fortsetter å være aktive også når nye enheter rekrutteres.

Dersom de tidligst aktiverte fibre fortsetter å være aktive mens stadig nye deler av muskelen må bidra for å opprettholde kraften, tyder det på en endring i forholdet mellom energiomsetning og kraft for den enkelte muskelfiber. Jeg skal ta opp dette poenget senere i diskusjonen og her bare trekke fram de funn som peker på muligheten for at dette er det som skjer. Histokjemiske studier viser at kreatinfosfat- og glykogenreservene i alle typer muskefibre er intakte helt til like før utmattelse og at alle fibertyper da tømmes for substrater omtrent samtidig (Vøllestad *et al.*, 1988). Med god tilgang på O_2 og substrater er det lite sannsynlig at type I fibre "skruer av" metabolismen tidlig i arbeidet for så å aktiveres igjen helt mot slutten. Det er derfor rimelig å anta at type I fibre opprettholder sin metabolske aktivitet selv om de er istand til å generere mindre kraft. En slik konklusjon forsterkes av det forhold at fyringsfrekven-

Diskusjon

sen i samtlige aktive motoneuroner øker parallelt med en økende rekruttering av nye fibre (Vøllestad *et al.*, 1991).

En annen mulighet for at forholdet mellom energiomsetning og kraft kan øke, er at det forbrukes mer ATP i en eller flere prosesser uten at utbyttet øker tilsvarende. Forskjeller i ATP-forbruk i ulike fibertyper antas å være knyttet til ulike former av myosin-ATPase. Det har vært foreslått at den gradvis økende "mekaniske effektiviteten" under langvarige anaerobe isometriske kontraksjoner kan være knyttet til en redusert hastighet på actin-myosin interaksjonen (Edwards *et al.*, 1975a; Spriet *et al.*, 1987). En kunne derfor tenke seg at en tilsvarende økning i myosin-ATPase aktivitet under repetert arbeid, vil kunne føre til en økning i energiomsetning.

Det finnes ikke eksperimentelle data som støtter en antakelse om endringer i egenskapene til myosin-ATPase, men endringer i relaksasjonshastighet (Edwards *et al.*, 1975a) og muskelfibreens fyringsfrekvens (se: Edwards, 1981) under langvarige kontraksjoner har vært sett i sammenheng med en mulig forandring i dette enzymets egenskaper (Edwards, 1981). Når arbeidet består av kortvarige repeterte kontraksjoner øker både relaksasjonshastighet og fyringsfrekvens (Vøllestad *et al.*, 1991). Dersom disse to faktorene er relatert til actomyosin-ATPase aktivitet, slik det er antydnet ovenfor, indikerer funnene til Vøllestad og medarbeidere en økning i ATP-omsetningshastigheten for dette enzymet.

På bakgrunn av tidligere funn er det naturlig å tillegge endringer i rekrutteringsmønster stor vekt når økningen i metabolsk aktivitet skal forklares. Ved å utføre studier på muskel som i hovedsak har en fibertypem, vil det antakelig være mulig å få bedre informasjon om det er økt rekruttering eller redusert "effektivitet" i enkeltfibre som er årsaken til endringene i økningen i dT/dt og O_2 -opptak.

4.3.3 Forholdet mellom ATP-resyntese og varmeproduksjon

Diskusjon

Det var en tilnærmet linær økning i O_2 -opptaket opp til 40 minutter og dette gir også en forventning om en lineær økning i dT/dt . Samtidig økte muskeltemperaturen med et gjennomsnitt på ca. 3 °C fra start av arbeidet til etter 15-20 minutters arbeid. Stabiliteten i muskeltemperatur etter 15-20 minutter er i overensstemmelse med observasjoner fra dynamisk arbeid ved 30% av maksimalt O_2 -opptak (Saltin *et al.*, 1968). Med en Q_{10} for varmeproduksjon i muskel på ca. 3 (Hill og Woledge, 1962), vil en kunne forvente en økning i dT/dt på ca. 40% som en følge av temperaturøkningen. Imidlertid har ingen av registreringene av dT/dt og O_2 -opptak samme tidsforløp som økning i muskeltemperatur og det er derfor rimelig å anta at temperaturøkningen bare delvis kan forklare endringen i "mekanisk effektivitet"

Det har vært foreslått at økningen i O_2 -opptak kan skyldes en "løskobling" mellom elektrontransportkjeden og den oksydative fosforyleringen i mitokondriene (Vøllestad og Sejersted, 1988; Vøllestad *et al.*, 1990). Bakgrunnen for en slik hypotese er følgende: Under langvarig isometrisk arbeid vil den intracellulære Ca^{++} konsentrasjonen være høy i lange perioder. Høy intracellulær Ca^{++} konsentrasjon kan føre til et opptak av Ca^{++} -ioner i mitokondriene. Et opptak av Ca^{++} -ionene vil antagelig skje på bekostning av opptak av H^+ -ioner slik at ATP-produksjonen blir hemmet (Olav Sand, personlig meddelelse). Ca^{++} -ionene vil så felles ut i mitokondriene i form av fosfatsalter og cellen blir på denne måten beskyttet mot en høy intracellulær Ca^{++} konsentrasjon. Sett i sammenheng med Ca^{++} -ionenes viktige rolle som intracellulært signalmolekyl kan en slik beskyttelsesmekanisme være betydningsfull.

Flere studier av Ca^{++} -homeostasen i muskel støtter denne hypotesen. Det er vist at mitokondriene under slike forhold på kort tid vil kunne ta opp betydelige mengder Ca^{++} fra cytosol under kontraksjon (Duan *et al.*, 1990) og at dette vil kunne føre til en svelling av mitokondriene som forstyrrer flere av denne organellens funksjoner (Crompton og Costi, 1988). Dersom Ca^{++} -ioner i økende omfang tas opp i mitokondriene under kontraksjon, vil konsentrasjonen av Ca^{++} -

Diskusjon

ioner i cytosol bli mindre, med et mulig fall i kraft som resultat. Dette skyldes at kraftutviklingen er nøye korrelert til Ca^{++} -metningen av troponin. Det er videre sannsynlig at en svikt i ATP-produksjonen, som følge av opptak av Ca^{++} i mitokondriene, vil føre til økt O_2 -opptak og økt varmeproduksjon. Økt varmeproduksjon som følge av en slik "løskobling" vil imidlertid kreve tilførsel av O_2 og dette oksygenet må finnes lagret i muskelen før start av kontraksjon.

I muskel er O_2 lagret i form av oxyhemoglobin i blod og oxymyoglobin i muskelcellens cytosol. Jansson (1981) fant et gjennomsnittlig myoglobin innhold i m. vastus lateralis på 25 mg/gram muskel(tørrvekt) (g_{tv}). Blod opptar 1-2 % av volumet i muskel (Andersen og Saltin, 1985), men har pga. den høye hemoglobinkonsentrasjonene en 40 ganger høyere konsentrasjon av O_2 enn muskelfibrene. På basis av disse data vil det totale O_2 innholdet i muskel være mellom 2.3 og 3.1 $\mu\text{mol O}_2/g_{\text{tv}}$, noe som tilsvarer en mulig oksydativ fosforylering av 14-18 $\mu\text{mol ADP}/g_{\text{tv}}$. Dette er i overensstemmelse med beregninger av Edwards og medarbeidere (1971) der tilsvarende verdi ble beregnet til ca. 15 $\mu\text{mol ATP}/g_{\text{tv}}$.

Hvis vi ser denne O_2 -reserven i sammenheng med Edwards (1976) beregninger av forholdet mellom ATP-omsetningsrate og kraft, vil det være mulig å beregne hvor lenge kontraksjoner på ulike kraftnivåer kan holdes gående ved oksydativ metabolisme. En 15 sekunders kontraksjon på 40% av MFK vil gi et beregnet ATP-forbruk på ca. 35 $\mu\text{mol ATP}/g_{\text{tv}}$ og ca. halvparten av ATP-mengden må da dekkes ved kreatinfosfat nedbrytning eller glykolyse.

Ved en eventuell mitokondriell "løskobling", vil en økende del av oksygenet i muskelen gå med til å produsere varme samtidig som ATP-utbyttet avtar. Følgelig vil en også en økende andel av ATP-resyntesen måtte skje anaerobt. Under kortvarige anaerobe kontraksjoner (15-20 sekunder) skjer ca 70% av ATP-resyntesen som en følge av kreatinfosfat nedbrytning (Sjöholm, *et al.*, 1983). Tabell 1.1 viser at en overgang fra oksydativ fosforylering til kreatinfosfat nedbrytning ikke kan ventes å gi en vesentlig økning i varmeproduksjonsraten under

Diskusjon

kontraksjon. En slik omdisponering av substratene ville imidlertid kunne føre til en økning i O_2 -opptak fordi øket degradering av kreatinfosfat under kontraksjon vil gi en øket resyntese av dette molekylet i hvile.

Dersom muskelen utover i arbeidet får dannet ATP fra glykolyse på bekostning av nedbrytningen av kreatinfosfat, vil resultatet bli en økning i varmeproduksjonsraten (tabell 1.1; kolonne 2). Glykogen- og kreatinfosfatnivåene (målt ved biopsier) holder seg tilnærmet konstant i de første 40 minuttene av arbeidet (Vøllestad *et al.*, 1988), men dette utelukker ikke en omfordeling av substratforbruk under kontraksjon. En slik omfordeling har vært målt under langvarige anaerobe kontraksjoner, men er antatt å være en følge av et kraftig fall i kreatinfosfatnivå pga. anaerobe forhold (Sjöholm *et al.*, 1983; Chasiotis *et al.*, 1987). En eventuell omfordeling av substratforbruk i retning av økt glykolyse vil imidlertid ikke kunne forklare økningen i O_2 -opptak, fordi mengden O_2 som går med til gjenvinningsreaksjoner i hvile ikke vil endres, så lenge det totale ATP-forbruket ikke øker. Økningen i dT/dt skyldes derfor neppe en forskyvning av forholdet mellom PCr-nedbrytning og glykolyse. Denne konklusjonen støttes av at ATP-produksjonene fra glykolyse bare tilsvarte ca. 5% av det totale ATP-forbruket i de første 40 minuttene av arbeidet (Vøllestad *et al.*, 1990)

4.3.4 Energiomsetningshastighet og muskeltretthet

I løpet av de første 40 minuttene av arbeidet falt maksimal frivillig kraft med 35% i gjennomsnitt. Dette fallet skyldes ikke en manglende stimulering av muskelen fra sentralnervesystemet og må derfor tilskrives en svikt i selve muskelcellen eller i overføringen mellom motorneuron og muskelfiber (Bigland-Ritchie *et al.*, 1986). Repetert submaksimalt arbeid av denne karakter fører imidlertid ikke til tømming av viktige substrater eller akkumulering av laktat (Vøllestad *et al.*, 1988); to faktorer som i en rekke studier er assosiert med fall i kraft (Karlsson og Ollander, 1972; Edwards *et al.*, 1975a; Harris *et al.*, 1977).

Diskusjon

Ved eliminasjon har derfor reduksjonen i muskelstyrke vært tilskrevet en svikt i eksitasjon-kontraksjonskoblingen (Vøllestad og Sejersted, 1988). Tidsforløpene til endringene i tretthet og energiomsetning er svært like noe som støtter muligheten for at det er en årsaksammenheng mellom disse faktorene. Denne undersøkelse gir imidlertid ikke holdepunkter for å trekke noen konklusjoner om et slikt årsaksforhold.

Det er i denne sammenheng et paradoks at langvarige kontraksjoner fører til en motsatt respons når det gjelder endringer i energiomsetning. Også under repeterte men anaerobe kontraksjoner skjer det en økning i muskelens "mekaniske effektivitet". Det kan derfor synes som om det er tilførsel av blod og dermed oksygen framfor innføring av små pauser som får muskelen til å foreta en drastisk endring i sin respons på isometrisk arbeid. Det er antakelig hensiktsmessig for organismen er å kunne opprettholde kraften så lenge som mulig. Under en anaerob kontraksjon kan derfor en reduksjon i ATP-turnover være en gunstig men kortsiktig strategi. Under slike forhold vil det antakelig være opphopningen av metabolitter som er begrensningen for arbeidets varighet. Redusert energiomsetning vil bidra til å forsinke en opphopning av H⁺- og fosfationer.

Under repetert arbeid og aerobe forhold vil metabolittene i stor grad fjernes mellom kontraksjonene (Vøllestad *et al.*, 1990). Begrensningen for muskelens yteevne vil da antakelig ligge på andre faktorer. Det er derfor nærliggende og tenke seg at en økning både i muskelaktivering og metabolsk aktivitet vil være en gunstig respons ved en økende muskeltretthet. Først når muskelen nærmer seg utmattelse, vil den komme i en "energikrise" tilsvarende den som oppstår under langvarige anaerobe kontraksjoner (Vøllestad *et al.*, 1988).

4.4 Oppsummering og konklusjoner

Diskusjon

Varmeproduksjonen i muskel avspeiler den metabolske aktiviteten under isometriske kontraksjoner. Resultatene i denne undersøkelsen viser at m. vastus lateralis kan betraktes som et termodynamisk lukket system ved isometriske kontraksjoner på over 20% av MFK og at temperaturstigningshastigheten derfor vil reflektere energiomsetningen i muskelcellen. Denne konklusjonen støttes av det lineære forholdet mellom dT/dt og kraft mellom 30 og 90% av MFK.

Resultatene viser også at det på lave kraftnivåer er en mindre økning i dT/dt med økende kraft. Dette er i overenstemmelse med etablert kunnskap om muskelaktivering og rekrutteringsmønster. De fleste type I fibre rekrutteres før type II fibre og har også en lavere energiomsetning på en gitt kraft en type II fibre. Metoden, slik den er anvendt, gir svært varierende respons over flere like kontraksjoner og dette begrenser muligheten for å anvende den i studiet av temporale endringer i energiomsetning. Variasjonen skyldes antakelig i første rekke små forflytninger av termoelementet mellom kontraksjoner. En utforming av termoelementene som forhindrer slik bevegelse, vil derfor kunne redusere fluktuasjonene betraktelig og gjøre metoden langt mer sensitiv.

Repetert submaksimalt isometrisk arbeid er assosiert med en økning i dT/dt og O_2 -opptak. Dette indikerer en reduksjon i "mekanisk effektivitet" samtidig som muskelstyrken avtar. Økt rekruttering av motoriske enheter og en økende aktivering av hver aktiv muskelfiber antas å være hovedårsakene til reduksjonen i "effektivitet". Endringer i muskelcellens Ca^{++} -homeostase, med påfølgende opptak av Ca^{++} -ioner i mitokondriene, har vært foreslått som en mulig årsak til både muskeltretthet og en endring i forholdet mellom energiomsetning og kraft i den enkelte muskelfiber. En økning i muskeltemperatur i løpet av de første 15 minuttene av arbeidet, vil imidlertid også bidra til å øke forholdet mellom metabolsk aktivitet og kraft.

Langvarige isometriske kontraksjoner fører også til et fall i muskelstyrke, men samtidig skjer det en økning i muskelens "mekanisk effektivitet". En totalt

Diskusjon

forskjellig respons under ulike former for langvarig isometrisk arbeid, ser altså ut til å være mulig. Resultatene i denne undersøkelsen gir imidlertid ikke holdepunkter for å si noe direkte om årsaksforholdene mellom muskeltretthet og endringer i "mekanisk effektivitet" under isometrisk arbeid.

Litteratur

5. LITTERATUR

AKRE, S. OG K. AUKLAND. (1970) Energy turnover in contracting muscle.
Acta Physiol. Scand. **79**, 20 - 21.

ANDERSEN, P. OG B. SALTIN. (1985) Maximal perfusion of skeletal muscle in man.
J. Physiol. **366**, 233 - 249.

BARCROFT, H. OG J.L.E. MILLEN. (1939) The blood flow through muscle during sustained contraction.
J. Physiol. **97**, 17 - 31.

BHATTACHARYYA, G.K. OG R.J. JOHNSON. (1977) Statistical concepts and methods. J. Wiley & Sons, New York.

BIGLAND-RITCHIE, B., F. FURBUSH, OG J.J. WOODS. (1986) Fatigue of intermittent submaximal voluntary contractions: central and peripheral factors
J. Appl. Physiol. **61**, 421 - 429

BOLSTAD, G. OG A. ERSLAND. (1978) Energy metabolism in different human skeletal muscles during voluntary isometric contractions.
Eur. J. Appl. Physiol. **38**, 171 - 179.

BURKE, R.E. (1981) Motor units: anatomy, physiology, and functional organization. I: Handbook of Physiology: The nervous system, motor control. (Red. J.M. Brookhart, og V.B. Mountcastle) Am. Physiol. Soc., Bethesda, MD. 345-422.

Litteratur

- CHASIOTIS, D., M. BERGSTRØM, OG E. HULTMAN. (1987) ATP utilization and force during intermittent and continuous muscle contractions. *J. Appl. Physiol.* **63**, 167 - 174.
- CROMPTON, M. OG A. COSTI. (1988) Kinetic evidence for a heart mitochondrial pore activated by Ca²⁺, inorganic phosphate and oxidative stress. *Eur. J. Biochem.* **178**, 489 - 501.
- CROW, M.T., OG M.J. KUSHMERICK. (1982) Chemical energetics of slow- and fast-twitch muscles of the mouse. *J. Gen. Physiol.* **79**, 147 - 166.
- DUAN, C., DELP, M.D., HAYES, D.A., DELP, P.D. OG R.B. ARMSTRONG. (1990) Rat skeletal muscle mitochondrial Ca⁺⁺ and injury from downhill walking. *J. Appl. Physiol.* **68**, 1245 - 1251.
- EDWARDS, R.H.T. (1971) Percutaneous needle biopsy of skeletal muscle in diagnosis and research. *Lancet* **2**, 593 -596.
- EDWARDS, R.H.T., D.K. HILL, OG M. MCDONNEL. (1972) Myothermal and intramuscular pressure measurements during isometric contractions of the human quadriceps muscle. *Proceedings of the physiological society* 58 - 59.(Abstract)
- EDWARDS, R.H.T., D.K. HILL, OG M. MCDONNEL. (1974) A thermistor probe for myothermal measurements in man. *J. Appl. Physiol.* **36**, 511 - 513.

Litteratur

EDWARDS, R.H.T., D.K. HILL, OG D.A. JONES. (1975a) Heat production and chemical changes during isometric contractions of the human quadriceps muscle.

J. Physiol. 251, 303 - 315.

EDWARDS, R.H.T., D.K. HILL, OG D.A. JONES. (1975b) Metabolic changes associated with the slowing of relaxation in fatigued mouse muscle.

J. Physiol. 251, 287 - 301.

EDWARDS, R.H.T. (1976) Metabolic changes during isometric contractions of the quadriceps muscle.

Medicine and sport 9, 114 - 131.

EDWARDS, R.H.T. (1981) Human muscle function and fatigue.

I: Human muscle fatigue: physiological mechanisms. Ciba Foundation symposium 82. (Red. Porter, R. og Whelan, T.) London: Pitman Medical 1 -18

GOLLNICK, P.D, J. KARLSSON, K. PIEHL OG B. SALTIN. (1974) Selective glycogen depletion in skeletal muscle fibers of man following sustained contractions.

J. Physiol. 241, 59 - 67.

GORDON COMPANY, USA. (1989) Gordon Temperature Measurement -produktliste og tabeller, Gordon Company, Richmond.

GUTH, L. OG F.J. SAMAHA. (1969) Qualitative differences between actomyosin ATPases of slow and fast mammalian muscle.

Exp. Neurol. 25, 138 - 152.

Litteratur

HARGENS, A.R., M.A. GOMEZ, K.L. EVANS, C.M. TIPTON, OG W.H. AKESON.
(1981) Correlation of interstitial fluid pressure and contraction force in canine skeletal muscle.

Bibl. Anat. 20, 260 - 262.

HARRIS, R.C., SAHLIN, K. OG E. HULTMAN. (1977) Phosphagen and lactate contents of m. quadriceps femoris of man after exercise.

J. Appl. Physiol. 43, 852 - 857.

HILL, A.V. (1965) Trails and trials in physiology,

Edward Arnold, London. 38 - 82.

HILL, A.V. OG R.C. WOLEDGE. (1962) An examination of absolute values in myothermic measurements.

J. Physiol. 162, 311 - 333.

HOMSHER, E. (1987) Muscle enthalpy production and its relationship to actomyosin ATPase.

Ann. Rev. Physiol. 49, 673 - 690.

HULTMAN, E., OG H. SJÖHOLM. (1983) Energy metabolism and contraction force or human skeletal muscle in situ during electrical stimulation.

J. Physiol. 345, 525 - 532.

HULTMAN, E. (1973) Energy metabolism in muscle.

J. Physiol. 231, 56.

Litteratur

HULTMAN, E. OG L.L. SPRIET (1986) Skeletal muscle metabolism, contraction force and glycogen utilization during prolonged electrical stimulation i humans.
J. Physiol. **374**, 493 - 501.

JANSSON, E. OG C. SYLVÉN. (1981) Myoglobin and fiber types in human skeletal muscle.
Acta Physiol. Scand. **112**, 12A. (Abstract)

KARLSSON, J. OG B. OLLANDER. (1972) Muscle metabolites with exhaustive static exercise of different duration.
Acta. Physiol. Scand. **86**, 309 - 314.

KUSHMERICK, M.J. (1983) Energetics of muscle contraction.
I: Handbook of Physiology.Sect.10. (Red. L.D. Peachey, R.H. Adrian, og S.R. Geiger). American Physiology Society, Bethesda,MD.. 189 - 236.

LEXELL, J., D. DOWNHAM, OG M. SJÖSTRÖM. (1986) Distribution of different fibre types in human skeletal muscles; fibre type arrangement in m. vastus lateralis from three groups of healthy men between 15 and 83 years.
J. Neurol. Sci. **72**, 211 - 222.

LEXELL, J., K. HENRIKSSON-LARSEN, OG M. SJÖSTRÖM. (1980) Distribution of different fiber types in human skeletal muscles. A study of cross-sections og whole m. vastus lateralis.
Acta. Physiol. Scand. **117**, 115 - 122.

Litteratur

- MILNER-BROWN, H.S., R.B. STEIN, OG R. YEMM. (1973) Changes in firing rates of motor units during linearly changing voluntary contractions. *J. Physiol.* **230**, 371 - 390.
- SALTIN, B., A.P. GAGGE, OG J.A.J. STOLWIJK. (1968) Muscle temperature during submaximal exercise in man. *J. Appl. Pysiol.* **25**, 679 - 688.
- SALTIN, B. OG P.D. GOLLNICK. (1983) Skeletal muscle adapatability: significance for metabolism and performance. *I: Handbook of Physiology.Sect.10.* (Red. L.D. Peachey, R.H. Adrian, og S.R. Geiger). American Physiology Society, Bethesda,MD.. 555 - 663.
- SANDBERG, J.A. OG F.D. CARLSON. (1966) The length dependence of phosphorylcreatine hydrolysis during an isometric tetanus. *Biochem. Z.* **345**, 212 - 231.
- SEJERSTED, O.M., A.R. HARGENS, K.R. KARDEL, P. BLOM, Ø. JENSEN, OG L. HERMANSEN. (1984) Intramuscular fluid pressure during isometric contraction of human skeletal muscle. *J. Appl. Pysiol.* **56**, 287 - 295.
- SJÖHOLM, H., K. SAHLIN, L. EDSTRÖM, OG E. HULTMAN. (1983) Quantitative estimation of anaerobic and oxidative energy metabolism and contraction characteristics in intact human skeletal muscle during and after stimulation. *Clin. Physiol.* **3**, 227 - 239.

Litteratur

SPRIET, L.L., K. SØDERLUND, OG E. HULTMAN. (1988). Energy cost and metabolic regulation during intermittent and continuous tetanic contractions in human skeletal muscle.
Can. J. Physiol. Pharmacol. **66**, 134 - 139.

SPRIET, L.L., K. SØDERLUND, M. BERGSTRØM, OG E. HULTMAN. (1987). Anaerobic energy release in skeletal muscle during electrical stimulation in men.
J. Appl. Physiol. **62**, 611 - 615.

VØLLESTAD, N.K. OG O.M. SEJERSTED. (1988) Biochemical correlates of fatigue.
Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol. **57**, 336 - 347

VØLLESTAD, N.K., O.M. SEJERSTED, R. BAHR, J.J. WOODS, OG B. BIGLAND--RITCHIE. (1988) Motor drive and metabolic responses during repeated submaximal contractions in humans.
J. Appl. Physiol. **64**(4), 1421 - 1427.

VØLLESTAD, N.K., J. WESCHE, OG O.M. SEJERSTED. (1990) Gradual increase in leg oxygen uptake during intermittent submaximal isometric contractions in man.
J. Appl. Physiol. **68**, 1150 - 1156.

VØLLESTAD, N.K., F. FURBUSH, J.J. WOODS OG B. BIGLAND-RITCHIE. (1991) Increased muscle activation and relaxation rate during fatigue from submaximal intermittent voluntary contractions.
J. Physiol. (In press)

Litteratur

WESCHE, J. (1986) The time course and magnitude of blood flow changes in the human quadriceps muscles following isometric contraction.

J. Physiol. **377**, 445 - 462.

WILES, C.M. OG R.H.T. EDWARDS. (1982) Metabolic heat production in isometric ischaemic contractions of human adductor pollicis.

Clin. Physiol. **2**, 499 - 512.

WOLEDGE, R.C., N.A. CURTIN, OG E. HOMSHER. (1985) Energetic aspects of muscle contraction.

Monographs of the Physiological Society No. 41, Academic Press, London.

"ENERGIOMSETNINGEN I MUSKLENE MÅLT SOM TEMPERATURSTIGNING"

INFORMASJON OG METODEBESKRIVELSE

Målet med denne informasjonen er å gi deg et så korrekt bilde som mulig av de prosedyrer og metoder som brukes i denne forsøksserien. Når du har lest det som er skrevet nedenfor, ber vi deg vurdere om du ønsker å delta som forsøksperson. Vi vil isåfall gjerne ha din skriftlige bekreftelse på at du ønsker å delta. Denne kan du gi på siste side i den kopien som du returnerer til oss.

Det er frivillig å delta og du kan når som helst trekke deg fra forsøkene uten å måtte begrunne en slik avgjørelse.

Hensikten med forsøkene:

Prosjektet er ett ledd i å forsøke å beskrive normalfysiologien til arbeidende muskulatur. Dette vil være en viktig del av arbeidet med å forbygge og finne gode behandlingsopplegg for muskulære skader som skyldes overbelastning.

Ved å måle temperaturendringer i musklene under arbeid vil det være mulig å si mer om energiomsetningen under disse forholdene. Det vil igjen føre til at vi får en bedre forståelse av i hvilken grad det er energetiske forhold som er årsak til tretthet, utmattelse og i siste rekke skader i muskulaturen.

En mer utfyllende redegjørelse for det teoretiske konseptet bak forsøksserien er gitt i "Energioomsetningen i musklene målt som temperaturstigning - Prosjektbeskrivelse".

Forsøksprotokollen:

Forsøkspersonene utfører repetererte kontraksjoner med knestrekkerne (m. quadriceps) mens de sitter i en ombygget stol. Stolen er konstruert slik at man

Appendix

sitter med litt mindre enn 90 graders vinkel i knærne og anklene festet med bøylor og stenger til en kraftregistreringsenhet. Man sitter med lett bakoverbøyet rygg for å forhindre at musklene i hoften skal kunne hjelpe til under arbeidet.

Ved begynnelsen av et slikt arbeide foretar forsøkspersonen noen maksimale kontraksjoner for at denne kraften skal være kjent. Kontraksjonskraften, som skal holdes under forsøket, settes til 30% av hver enkelts maksimale kraft. Arbeidet består i å holde kraften i ca. 10 sekunder og hvile i ca. 4 sekunder. Dette mønsteret vil i noen av forsøkene bli gjentatt inntil utmattelse er nådd.

På gitte tidspunkter under og etter arbeidet skal forsøkspersonen gjøre en maksimal kontraksjon, slik at forandringene i muskelkraft kan måles. Det kan være aktuelt å variere kraften på de repeterte kontraksjonene samt varigheten av kontraksjons- og hvileperioden.

Navn og personnummer anonymiseres før bearbeidelse av dataene fra forsøkene.

Metoder som benyttes i forsøkene:

Temperaturmålinger i muskel:

Trådene, som brukes til å registrere temperaturen, legges inn med en venflon, som er en sprøytespiss som brukes til bl.a blodoverføringer. Innlegging av denne type sprøytespisser er et ukomplisert inngrep, som utføres rutinemessig på alle sykehus. For at ikke stikket skal kjennes, blir huden lokalbedøvet i et lite område rundt innstikkstedet.

Innleggingen vil skje på følgende måte:

- * Huden over innstikkstedet vaskes med desinfiserende løsning og lokalbedøves.

Appendix

- * Venflonen legges inn i muskelen i 3 til 5 centimeters dyp og parallelt med muskelfibrene.
- * Nålen fjernes og tråden føres inn gjennom det plastrøret som ligger utenpå nålen.
- * Når tråden er ført helt inn trekkes plastrøret tilbake og fjernes.
- * Tråden tapes fast til huden slik at den blir liggende på plass i muskelen.
- * Tråden ligger inne under hele arbeidet og trekkes ut like etter at arbeidet er avsluttet.

Måling av rektaltemperatur:

I noen av forsøkene vil det ikke være ønskelig å måle blodtemperatur og blodtrykket lokalt. For å ikke miste informasjon om variasjoner i kroppstemperaturen, vil vi i disse forsøkene registrere rektaltemperaturen. En rektalprobe legges inn før forsøket og fjernes når forsøket er ferdig. Metoden er mye i bruk og medfører ikke ubehag.

Måling av hjerterefrekvens:

Hjerterefrekvensen registreres ved EKG målinger. Disse foretaes med tre elektroder festet på huden på brystkassen.

Blodprøver:

Ved å ta prøver fra blodet som gær til og fra de arbeidende musklene, er man i stand til å undersøke hva som tas opp eller slipper ut av musklene. For å unngå og stikke mer enn en gang, blir blodprøvene tatt gjennom en tynn plastslange (kateter). Kateterisering blir rutinemessig utført ved et stort antall laboratorier i en rekke land.

Appendix

I dette forsøket er det aktuelt å kateterisere lårarterien og lårvenen. Dette gjøres ved hjelp av den såkalte Seldinger teknikk, som blir utført på følgende måte:

- * Huden over årene barberes og vaskes med desinfiserende oppløsning.
- * En tynn, myk metall-leder føres inn i åren gjennom sprøytespissen.
- * Sprøytespissen trekkes ut mens metall-lederen ligger på plass inne i åren.
- * Utenpå metall-lederen tres et tynt plastrør (kateter) som føres langs metall-lederen inn i åren.
- * Metall-lederen trekkes ut gjennom kateteret, som blir liggende på plass i åren.

Måling av intramuskulært trykk:

Vi bruker også et kateter til å måle trykket i musklene. Kateteret legges inn på samme måte som nevnt ovenfor og trykkoverføringen skjer over en membran i enden av kateteret, som er tilknyttet forsterkerutstyr.

Muskelbiopsier:

For å studere biokjemiske forandringer i musklene direkte, er det nødvendig å ta prøver fra muskulaturen. Dette gjøres ved nålebiopsimetoden som benyttes ved en rekke laboratorier verden over. I dette forsøket vil det være aktuelt å ta biopsier fra lårmusklene, nærmere bestemt m.vastus lateralis.

Nålebiopsier blir utført på følgende måte:

- * Huden over muskelen barberes og vaskes med desinfiserende oppløsning.
- * Det aktuelle området lokalbedøves. Forsøkspersonen kjenner et lite stikk i huden og en sprengningsfornemmelse i underhuden.

Appendix

- * Med et sterilt knivblad snittes ca. 5-10 mm i huden og underhuden. Dette foregår uten at forsøkspersonen kjenner noe som helst.
- * En liten muskelbit (ca. 20 mg) kuttet ut fra muskelen. Forsøkspersonen kjenner ofte et lite støt. Vanligvis er det liten eller ingen smerte forbundet med inngrepet. Snittet i huden plastres igjen.
- * Plasteret fjernes etter 6-7 dager når såret i huden er grodd.

Måling av temperatur og trykk i lårarterien:

Disse registreringene blir gjort gjennom det samme kateteret som brukes til å ta blodprøver. Ved blodprøvetaking avbrytes disse registreringene midlertidig. Det mulig å registrere både temperatur og trykk gjennom samme kateter ved at kateteret har flere utganger.

Etter kateterisering vil vi injisere en liten mengde sterilt isotont saltvann i arterien. Vi vil da kunne avsløre om temperatur-elektrodene i muskelen ligger nær blodårer og justere plasseringen før forsøket starter. På denne måten kan vi sikre oss bedre måleresultater og derved redusere det nødvendige antall forsøk.

Målingen av temperatur i arterien gjøre enkelt ved at en temperatur-elektrode legges inn i kateteret og blir liggende i arterien under arbeid.

Målinger av trykk:

På den ene utgangen av kateteret setter vi en innretning med en membran som registrerer trykket og overfører det til et elektrisk signal. Metoden er godt kjent ved Arbeidsfysiologisk seksjon.

Risikomomenter og restriksjoner i normal adferd:

Før forsøkene starter vil du bli undersøkt av en lege for å forsikre oss og deg

Appendix

om at du er frisk. En urinprøve vil bli undersøkt rutinemessig og det vil bli tatt en blodprøve for undersøkelse av HIV virus og hepatitt B. Resultatene fra disse undersøkelsene blir behandlet konfidensielt. Ved eventuell positiv HIV test, vil du bli innkallt til instituttet og resultatet vil bli forelagt deg av en lege.

Legeundersøkelsen vil innebære grundige undersøkelser av kneet. Dette gjør vi for å forhindre belastningsskader på knærne som følge av forsøket. Etter legeundersøkelsen gjennomfører vi en "treningsrunde" med statiske kontraksjoner på forskjellige kraftnivåer, for at du skal bli kjent med denne typen uvant arbeide. Dersom du er disponert for plager ved denne typen arbeid vil vi få en indikasjon på det og vil i såfall avslutte forsøksserien for din del.

Trådene som benyttes til temperaturmålingene er ca. 0.3 millimeter tykke og det blir derfor liten eller ingen blødning som følge av forsøket. Når venflonen legges inn, kan det allikevel skje at enkelte muskelfibre og små årer brister slik at noe væske siver ut i vevet. Resultatet vil bli en følelse av at muskelen er litt stiv i området, noe som går over i løpet av et par dager. Omfanget av denne lille blødningen er så lite at det ikke hemmer muskelbruken etter forsøket.

Av og til kan det oppstå et lite hematom i forbindelse med kateterisering av et blodkar. Et hematom er en blodansamling under huden som skyldes at det lekker litt blod fra innstikkshullet i åren.

Manuell kompresjon opprettholdes i 10 minutter etter at kateteret er tatt ut. Dette gjøres ved å presse en kompress mot huden over åren for å forhindre en eventuell blødning. Deretter opprettholdes kompresjonen ved hjelp av trykksbandasje resten av dagen. Forsøkspersonen får ikke lov til å drive fysisk aktivitet utover daglig virke, resten av dagen. Han/hun skal heller ikke foreta tunge løft i dette tidsrommet.

Når man legger utstyr inn gjennom huden, vil det alltid være en viss fare for

Appendix

infeksjoner. For å sikre oss at dette ikke skjer, blir alle inngrep gjort under sterile forhold. Alt utstyr som legges inne er selvsagt sterilisert.

Etter muskelbiopsier er det vanlig at forsøkspersonen kjenner en stølhet i muskelen i 2 til 3 dager etter forsøket.

Alle teknikker og eksperimentelle modeller er nøye utprøvet på seksjonens forskere før andre forsøkspersoner blir bruk. Rutinene, teknikkene og protokollene som blir brukt er dessuten vurdert av en uavhengig etisk komite.

Ved komplikasjoner:

Skulle det oppstå medisinske problemer som du tror kan ha en sammenheng med forsøkene, skal du snarest ta kontakt med en av seksjonens leger, uansett tid på døgnet. Disse er:

Ole M. Sejersted	Abbedikollen 25, 0280 OSLO 2	52 29 32
Roald Bahr	Flåtestadvn. 111, 1415 OPPEGÅRD	99 10 88
Unnie Høigaard	Riihimakivn. 5, 2013 SKJETTEN	84 41 43

I arbeidstiden har de alle telefon 46 68 50.

Du kan også kontakte lege Jens Ivar Brox, Per Kvibergsgt. 24, 0478 OSLO 4
tlf(priv) 71 13 07 (arb) 11 97 29.

Viktige ting å passe på:

Forsøk å holde på dine normale vaner når det gjelder kosthold og fysisk aktivitet de siste par dagene før et forsøk. Ingen trening samme dagen som forsøket,

Appendix

eller kvelden før når forsøket går tidlig på morgenen. Forsøkene er fysisk krevende så det anbefales å ta med treningstøy. Det er mulighet for å dusje på instituttet.

Oppmøte:

Vi avtaler oppmøtetid for de enkelt forsøkene. Forsøkene kommer hovedsaklig til å bli lagt til ettermiddagene eller tidlig kveld. Et forsøk vil vare i ca 3 timer.

Godtgjørelse:

Satsen for godtgjørelse er for tiden kr. 50 pr. time og dette utbetales som diettgodtgjørelse. Det utbetales godtgjørelse for den tiden dere er her på instituttet.

Jeg har gjort meg kjent med innholdet i denne informasjonen og ønsker å delta som forsøksperson i forsøksserien "Energiomsætningen i musklene målt som temperaturstigning.

.....

.....

Sted

Dato

.....

Signatur

Når du nå har vært forsøksperson i en av våre undersøkelser, ønsker Arbeidsfysiologisk seksjon å opprettholde kontakten med deg for å høre om dine erfaringer. Forsøksleder Eirik Saugen vil kontakte deg jevnlig i en periode etter av forsøkene er avsluttet.

Forkortelser

FORKORTELSER

ADP	adenosin-difosfat
ATP	adenosin-trifosfat
Ca ⁺⁺	kalsiumion
CO ₂	karbondioksyd
Cr	kreatin
dT/dt	temperaturstigningsrate (°C s ⁻¹)
EMG	elektromyogram
g _{tv}	gram muskel (tørrvekt)
H ⁺	hydrogenion
La ⁻	laktation
m.	musculus
MFK	maksimal frivillig kontraksjon
O ₂	oksygen
PCr	fosforylcreatin/kreatinfosfat
P _i	fosfation (HPO ₄ ²⁻)
T _m	muskeltemperatur
T _r	rektaltemperatur